Aus dem
Lehrfach für Kolloidchemie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Prof. Dr. Heinrich Thiele
und der
Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der
Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med., Dr. med. dent. Ewald Harndt

IONOTROPE GELE UND DENTINLEITSTRUKTUR

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Erhard Thiele
aus Nowawes

1966

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535704_0090

Aus dem
Lehrfach für Kolloidchemie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Prof. Dr. Heinrich Thiele
und der
Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der
Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med., Dr. med. dent. Ewald Harndt

IONOTROPE GELE UND DENTINLEITSTRUKTUR

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Erhard Thiele
aus Nowawes

Dekan: Professor Dr. med. Alfred, N. Witt
Referent: Professor Dr. med., Dr. med. dent. Ewald Harndt
Korreferent: Professor Dr. med. Hans-Joachim Dulce

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24. Oktober 1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATUR	2
I. KOLLOIDE, GELE, IONOTROPIE	2
Bausteine monomerer Natur	2
Bausteine polymerer Natur	2
a. Allgemeines	2
b. Einteilung	3
c. Das Gel	3
1. Biologische Gele - Strukturgele - Gewebe	3
2. Synthetische Gele - Statistische Gele - Kunststoffe	3
3. Alginat	4
d. Strukturbildung	4
1. Biologische Kräfte oder chemische Reaktion	4
2. Geschichtliche Entwicklung	4
3. Strukturgele in vitro	5
4. Modelle in der Forschung	5
e. Ionotropie	6
1. Die Strukturzonen	6
AA. Membranzone	6
BB. Zone der tropfigen Entmischung	8
CC. Kapillarzone	8
DD. Linsenzone	9
EE. Streifenzone	9
2. Variable Versuchsfaktoren	9
AA. Solkomponente	10
BB. Versuchsanordnung	10
Planparallelwachstum	10
Zentrifugalwachstum	10
Zentripetalwachstum	12

Seite

B. I.e. 3. Das ionotrope Gel als Modell 12
AA. Sphärite 12
BB. Osteone 12
CC. Haut und Aorta 12
DD. Weitere Modelle 13
4. Symplexe 13
5. Das kapilläre Strukturgel als Dentinmodell 14
II. DENTINMATRIX ALS GEL 15
a. Dentin und Strukturgel 16
1. Entstehung der organischen Matrix 16
2. Struktur der Dentinmatrix 21
3. Chemische Beschaffenheit 27
4. Polysaccharide, Symplexe in vivo und in vitro 28
III. QUINTESSENZ UND ZIELSETZUNG 30
C. MATERIAL UND METHODEN 30
- KAPILLÄRE STRUKTURGELE ALS MODELL FÜR DIE DENTINMATRIX -
I. VERSUCHSÜBERSICHT 30
II. KOLLOIDCHEMISCHE ANALYSE 37
- Strukturabbau -
a. Ausgangsstoffe 37
b. Entmineralisierung 38
1. EDTA 38
2. Citronensäure 38
3. Unterphosphorige Säure 38
c. Quellung 40
1. Mechanismus 40
2. Quellungsmittel 40
3. Quellzeit 40
d. Dialyse 44
III. DAS SOL 45
a. Trockensubstanzbestimmung 45

	Seite
C. IV. IONOTROPE RESTRUKTURIERUNG	47
a. Herkömmliche Ionenarten	47
1. Alginat	48
2. Kollagen	48
3. Symplexe	48
- Kollagen + Alginat -	48
- Kollagen + Hyaluronsäure -	49
- Kollagen + Chondroitinsulfat -	50
4. Symplexoptimum	50
5. Quellungsphasen	51
b. Me-Ionen-Austausch	59
c. Physiologische Ionotropie	59
1. Kapillaritätsoptimum	59
2. Andiffusionsgeschwindigkeit	62
d. Kontrollversuch	63
Versuchsplan und Tabellen	64
D. ERGEBNISSE	74
E. DISKUSSION	76
F. ZUSAMMENFASSUNG	87
G. LITERATURÜBERSICHT	88
LEBENSLAUF	97

A. EINLEITUNG

Genese und Struktur des Zahnbeins sind häufig untersucht und beschrieben worden. Eine Summierung der einzelnen Resultate ergab bisher kein einheitliches Bild. Man findet Widersprüche in den Meinungen. Demgegenüber sind in mehreren Arbeiten Andeutungen über neue Möglichkeiten zur Erklärung der Matrixbildung im Dentin aufgezeigt worden. Macht man sich unter diesen Gesichtspunkten aus den verschiedenen Untersuchungsergebnissen ein Bild, so kann man sich eine Matrix als auf kolloidchemische Weise entstanden denken. Daraus folgt die Aufgabe, durch Rekonstruktion des angenommenen Ablaufs der Dentinogenese im Organismus eine weitgehend ähnliche Matrix in vitro aufzubauen. Die Dentinmatrix wird in ihre Bausteine aufgelöst und daraus restrukturiert. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, mit ionotropen Gelen eine dentinähnliche Struktur zu erzeugen, die morphologisch in ihrer Kapillarisierung und chemisch dem natürlichen Dentin in Beziehung gesetzt werden kann. Derartige Modelle sind für die weitere zahnärztliche Grundlagenforschung und für die Kariesforschung von Bedeutung. Fragen der Mineralisation, der Demineralisierung und der Zerstörung derartiger Gewebe durch Mikroorganismen und andere kariesähnliche Reaktionen könnten an derartigen Modellen untersucht werden.

B. LITERATUR

1. KOLLOIDE, GELE, IONOTROPIE

Bausteine monomerer Natur:

Zur Charakterisierung monomerer Substanzen gegenüber den Polymeren ist ein Schema geeignet.

Monomer	Polymer
3 Aggregatzustände	Mesophasen
Homogen	Mikroheterogen
Kristallgitter	Raumnetz
Echtlöslich	Kolloiddispers
Nichtquellbar	Quellbar
Niederviskos	Hochviskos
Schmelzpunkt	Erweichungsbereich

Die Abbildung 1 zeigt den Unterschied von Kristall, Fadenmolekül und Lösung, nach THIELE, H. [136].

Bausteine polymerer Natur:

a. Allgemeines

Wie der Name "Polymere" sagt, bestehen diese Bausteine aus vielen Teilen, Grundbausteinen, welche zu einer Kette größerer Länge angeordnet sind. Sie werden daher auch als Fadenmoleküle bezeichnet. Da sie jedoch eine Zwischenstellung in der bisherigen Ordnung einnehmen, kann man sie mit dem gleichen Recht Mikrokristalle nennen.

Früher sah man Kolloide als amorph, gestaltlos an. "Kolloide sind nicht amorph, wie man früher glaubte, amorph waren nur unsere Vorstellungen", THIELE, H.[130]. Kolloide sind Mikrokristalle oder Makromoleküle.

b. Einteilung

Organische Gewebe bestehen aus anisometrischen Faden- und Plättchenmolekülen, besonders interessieren sie, wenn sie reaktive ionische Gruppen tragen, also Polyelektrolyte darstellen wie Proteine, Mucopolysaccharide, wie alle Mucine, z.B. Alginsäure, Pektinsäure, Hyaluronsäure (HYS), Chondroitinschwefelsäure (CHS) und andere. Die Mucopolysaccharide (MPS) sind im ein- und vielzelligen pflanzlichen und tierischen Organismus bei Wachstum und Entwicklung von Bedeutung.

c. Das Gel

Gele als für den Organismus bedeutende Zwischenstrukturen stehen zwischen Fest und Flüssig. Dies ist der Zustand, der der lebenden organischen, biologischen Substanz eigen ist.

1. Biologische Gele - Strukturgele - Gewebe:

Die biologische Substanz, als Gewebe bezeichnet, gehört zu den Gelen und Gallerten, jedoch mit einer Spezifizierung: Im Polarisationsmikroskop, Röntgenspektroskop und im Elektronenmikroskop lassen sie eine submikroskopische Ordnung der Fadenmoleküle erkennen. Polarisationsoptisch sind sie anisotrop, sie sind doppelbrechend. "Man findet kaum Strukturen ohne eine solche Ordnung, denn es sind Gewebe und nicht Gewölle", THIELE, H.[130]. Dies haben auch die Untersuchungen von NAEGELI (1862), AMBRONN (1910), RINNE (1934) und SCHMIDT (1937) an Cellulose, Stärke, Chitin, Kollagen, in Faser, Muskel, Feder, Haar, Seide, Knochen Perle und Zahn ergeben.

2. Synthetische Gele - statistische Gele - Kunststoffe:

Gele aus Makromolekülen gibt es nicht nur im lebenden Organismus. In der Zahnheilkunde zum Beispiel finden gegenwärtig mehr und mehr synthetische Kolloide Verwendung, die man unter dem Begriff Kunststoffe zusammenfaßt.

3. Alginat:

Fadenmoleküle mit ionischen Gruppen wie Pektin und Alginat sind von besonderem Interesse. Salze der Alginsäure werden in dem kolloidchemischen Nachbau von Geweben propädeutisch verwendet. Zum zahnärztlichen Abdruckalginat besteht ein wesentlicher Unterschied darin, daß dieses aus statistisch verteilten Fadenmolekülen besteht, während Alginat für Gewebsmodelle durch Ionendiffusion wohlgeordnete Fadenmoleküle aufweist, wie das polarisationsoptische Bild zeigt.

d. Strukturbildung

1. Biologische Kräfte oder chemische Reaktion:

Biologische Gewebe sind Gele aus geordneten Fadenmolekülen. Daraus ergab sich die Frage nach dem Zustandekommen einer solchen Ordnung bei der Strukturbildung und dem Wachstum. Ein Polyelektrolyt einerseits bildet mit einem Gegenion anderseits ein Gel. Dieses besitzt eine mikroskopische Ordnung.

2. Geschichtliche Entwicklung:

RASPAIL hielt seinerzeit Gewebe für Schäume und etwas später BÜTSCHLI für Waben. Heute ist bekannt, daß Fadenmoleküle zu einer wasserreichen, lockeren Struktur verfestigt sind.

SCHERRER sagte 1918, daß die Ordnung kolloider Teilchen durch gerichtete Koagulation vor sich gehen müsse. HABER, F. schrieb 1922: "Das, was wir Wachstum nennen, ist die gittermäßige Vermehrung organischer Substanz bei größter Verlangsamung der Niederschlagsbildung." Nach BECHHOLD (1929) ist "die gerichtete Koagulation die Grundlage für Strukturbildung, Formgebung und Wachstum im Organismus". SZENT-GYÖRGYI sagte 1937 in seinem Nobelvortrag: "Bei allen meinen Untersuchungen wurde ich durch die Überzeugung geleitet, daß die ursprünglichen und grundlegenden Funktionen der lebenden Substanz durch Ionen hervorgebracht werden, Ionen sind die mächtigen Werkzeuge, welche das Leben fand."

3. Strukturgele in vitro:

Die Ansichten der oben zitierten Autoren laufen wohl in die Richtung der zu deutenden Vorgänge, aber bei einer Koagulation werden die Kolloidteilchen völlig entladen, ausgeflockt und dehydratisiert. Für die Vorstufe zur Flockung - dem Gel - darf man durch die Gegenionen die kolloiden Fäden oder Plättchen nur teilweise entladen und dehydratisieren. Läßt man die Gegenionen in einer Richtung in das Sol eindiffundieren, so werden die Fäden des Polyelektrolyten senkrecht zum Ionenstrom geordnet und dann zu einem insgesamt anisotropen Gel verfestigt. Diese IONOTROPIE (H. THIELE) wurde durch C. STERLING und W. T. HIGDON (1957) bestätigt. Auf diese Weise lassen sich Polyanionen, -kationen und -amphiionen orientieren und ergeben Strukturgele, welche doppelbrechend sind. Sie sind in der Lage, reversibel Ionen auszutauschen, anisometrisch zu quellen und zu entquellen und sich durch Ionenaustausch reversibel zum Sol zu lösen. Damit erfüllen sie alle Bedingungen, um Modelle biologischer Strukturen nachzubilden, THIELE, H.[133].

4. Modelle in der Forschung:

Nutzen und Hilfe von Modellen, wie Atom- und Kristallmodelle, sind in der Naturwissenschaft durchaus bekannt, auch in der Medizin existiert eine Vielzahl von Modellen wie die osmotische Zelle von PFEFFER oder das Enzymmodell von LAUTSCH. BONNHOEFER wies seinerzeit darauf hin, daß man nur nichts Unmögliches oder Unsinniges von diesen Modellen verlangen dürfe. Um sogleich einer falschen Auffassung zu begegnen, sei vonvornherein hervorgehoben und ausdrücklich betont, daß hier keine lebenden Zellen vorliegen. Sie sollen und können es gar nicht sein. Hier wird lediglich die zwischenzellige Substanz unter physiologischen Bedingungen mit physiologischen Stoffen nachgebildet als der Apparat, ohne den kein höher differenzierter Organismus auskommen kann. Anfangs sind es nur rohe Nachbildungen, aber sie verfeinern sich mit zunehmender Erkenntnis und nähern sich immer mehr dem natürlichen Vorbild, THIELE, H.[130]. Zur Erklärung der Entstehung biologischer Gewebe bestanden eine Reihe anderer Modelle, die jedoch Fehler aufwiesen.

e. Ionotropie

Ionotrope Gele bilden sich einem allgemeinen Ordnungsprinzip folgend. Dieses kann in bestimmtem Umfang durch Veränderliche variiert werden.
In einem Sol liegen die Fadenmoleküle - teilweise dissoziiert - in Form von Polyionen in statistischer Ordnung vor, Abb. 2, nächste Seite. Wird das Sol mit einer Elektrolytlösung überschichtet, so bildet sich an der Berührungsfläche der beiden Phasen eine Grenze aus. Diese Phasengrenze hat den Charakter einer Membran.

Um den Ablauf übersichtlich zu gestalten, nehmen wir Natrium-Alginat als Beispiel. An der beschriebenen Phasengrenze setzt eine Diffusion von Ionen ein. Die im Vergleich zu den Polyionen der Alginsäure kleineren und schnelleren Na^{+}-Ionen diffundieren aus dem Sol hinaus durch die Membran und erzeugen mit ihrer elektrischen Ladung ein Diffusions- oder Membranpotential. Überschichtet man 1 %iges Na-Alginat mit 1n $Cu(NO_3)_2$-Lösung, so bildet sich zunächst die Membran.

Diese Membran ist ein Gel aus unlöslichen Cu-Alginatmolekülen, formal nach: 2 Na-Alginat + $Cu(NO_3)_2$ = $Cu(Alginat)_2$+2$NaNO_3$, die aus dem Zustand dreidimensionaler, statistisch verteilter Knäuel im Sol in eine zweidimensionale, planparallele Orientierung senkrecht zur Ionendiffusion übergegangen sind, Abb. 2, nächste Seite. Die Molekülketten konnten wegen ihrer Größe die entstandene Membran nicht passieren und haben sich im elektrischen Feld flach angelegt. Darauf wurden sie durch die eindiffundierenden Cu^{++}-Ionen im Zustand der gewonnenen Ordnung fixiert.

Ein Schema der ablaufenden Reaktion auf der nächsten Seite zeigt die beschriebenen Phasen, Abb. 3a - e. Dieser Vorgang gilt als ein allgemeines Prinzip der Ordnung. Die Fadenmoleküle werden in diesem Modell durch mehrwertige Gegenionen fixiert.

1. Die Strukturzonen:

AA. Membranzone:

Die entstandene Primärmembran erinnert nicht nur in ihrer Entstehung, sondern

Abb. 2: Fadenmolekül im Solzustand als Knäuel.

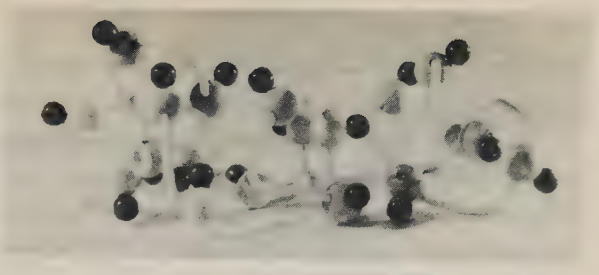
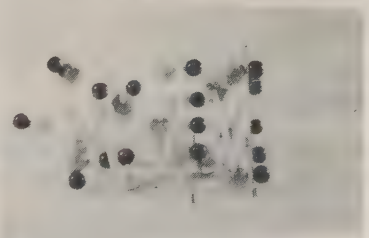


Abb. 3a – e:

a: Sol. Fadenmoleküle in statistischer Verteilung, gequollen, die freien Räume werden von mehr oder weniger fest gebundenem Wasser eingenommen.

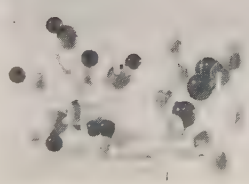
b: Entstehung einer Phasengrenze, Orientierung einer ersten Molekülschicht und partielle Entladung und Dehydratation derselben.

c: Nach links fortschreitende Wachstumsebene mit partieller Entladung und Dehydratation.



d: Gegenionen diffundieren ein.

e: Vernetzung der orientierten Fadenmoleküle durch eindiffundierte Ionen. Es ist ein Raumnetz aus Fadenmolekülen mit Orientierung senkrecht zur Wachstumsebene entstanden.



auch in Form, Feinbau und Eigenschaften an Basalmembranen im heutigen Sinne: Sie wird bis zu 1 µ dick, kann Bakterien, Viren und Kolloide zurückhalten und ist als Ultrafilter geeignet. Membranen im Organismus bestehen nach PEASE[112] hauptsächlich aus Polysacchariden - also Fadenmolekülen - und finden sich in Lungenalveolenwänden, in der Hirnhaut, der inneren Augengrenzmembran, dem Muskelsarkolemm, der Tunica media und der SCHWANNschen Scheide. Auch im Zahn gibt es eine solche Membran.

BB. Zone der tropfigen Entmischung:

Verfolgt man das Wachstum eines ionotropen Gels weiter, so stellt man den Übergang in eine neue Zone fest, die der tropfigen Entmischung.
Wie schon bei der Bildung der Primärmembran werden auch hier die räumlich folgenden Polyelektrolytionen durch eindiffundierende Gegenionen im Zustand der Ausrichtung fixiert und partiell entladen, wodurch sie einen Teil ihres Hydratationswassers verlieren. Aus dem freiwerdenden Wasser bilden sich erst submikroskopische, dann mikroskopische Tröpfchen, die in der Folge des Gelwachstums nach und nach immer mehr an Volumen zunehmen. Während der Bildung und des Zusammenflusses dieser Tröpfchen entsteht eine um 3 µ breite Zone der tropfigen Entmischung.

CC. Kapillarzone:

Die nun lichtmikroskopisch sichtbaren Tröpfchen werden vor der fortschreitenden Ausrichtungsfront einhergepreßt, stoßen gerade, parallele Kanälchen durch das Sol und prägen ihm die Form auf, welche durch die nachfolgende Vernetzung fixiert wird. Die entstandenen Kapillaren sind annähernd parallel, etwa gleich groß mit einem Durchmesser von 1 - 250 µ und weisen in ihrem Verlauf einen schwachen Anstieg von variabel 1 : 4 auf. Die gleichfalls variable Zahl der Kanälchen beträgt von einigen Tausend bis zu einigen Millionen pro cm^2. Während der Bildung der Kanälchen kann es zum Zusammenfließen zweier benachbarter Wassertropfen kommen, so daß zwei Kapillaren in eine übergehen. Die Kapillarenbildung hört meist an einer scharfen Trennungslinie auf; sie kann auch eine Richtungsänderung aufweisen. Bis zu einer Schichtdicke von 3 mm können die Kapillaren noch einen Durchmesser von unter 1 µ besitzen.

DD. Linsenzone:

Die sich nun bildende Zone wird geprägt durch Verlangsamung der Ionendiffusion. Die Wassertröpfchen haben Zeit, sich zu vereinigen, erst zu Linsen, später zu Bändern. Auch hier wird das zwischen den Wasserlinsen liegende Sol nachfolgend zum Gel verfestigt.

EE. Streifenzone:

Die Bänder werden dann gleichmäßiger und gehen in die letzte Zone paralleler Streifen über, Abb. 4.

Die Zonen der Ionotropie gibt Abb. 4 wieder.

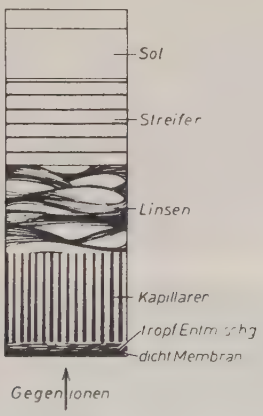


Abb. 4: Die 5 Zonen mikroskopisch nach THIELE, H.

2. Variable Versuchsfaktoren

Die veränderlichen Faktoren hierbei liegen einmal in den Komponenten selbst, zum anderen in der Anordnung der Komponenten zueinander.

AA. Solkomponente:

Die Variation der Solkonzentration liegt zwischen zwei Extremen, bei denen keine Kapillarbildung zustandekommt. Ist die Konzentration des Sols zu niedrig, so treten die Wassertröpfchen sofort zusammen und bilden eine Wasserschicht, hinter der die Reaktion erst weiterläuft, wenn genügend Gegenionen in die Schicht eindiffundiert sind. Ist das Sol zu konzentriert, so findet keine Entmischung mehr statt, da die Fadenmoleküle dicht gepackt liegen und alles Wasser rasch binden können. Einfluß hat auch die Länge der Molekülketten: unterhalb 1000 Å gibt es keine Kapillaren mehr.

BB. Versuchsanordnung:

Planparallelwachstum:

Modellmäßig übersichtlich ist das Flächengel, das aus einem mit Gegenionenlösung überschichteten Sol entstanden ist, Abb. 6 a - c, nächste Seite.

Zentrifugalwachstum:

Läßt man in eine Solschicht wenige Tropfen einer Elektrolytlösung nebeneinander einfallen, so bilden sich anfangs um jeden einzelnen Tropfen konzentrische Ringe, die später zu einer lamellären Struktur zusammenfließen, Abb. 5, unten.

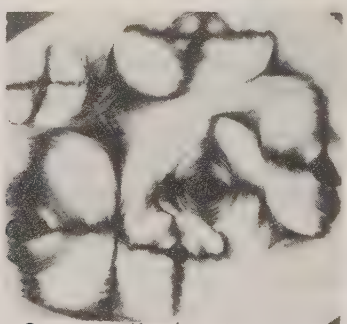
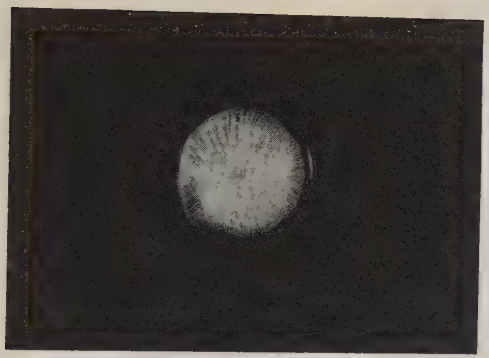
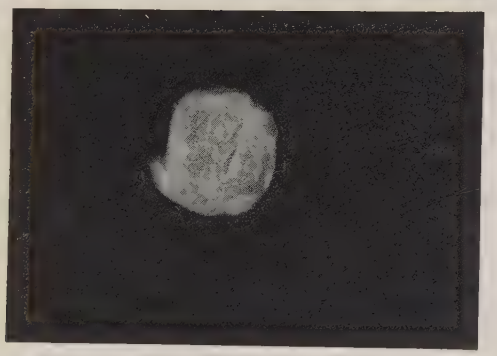


Abb. 5: Modell der Osteone im Knochen, ionotropes Cu-Alginat im polarisierten Licht. Zentrifugales Wachstum (nach THIELE, H.).

a



b



c

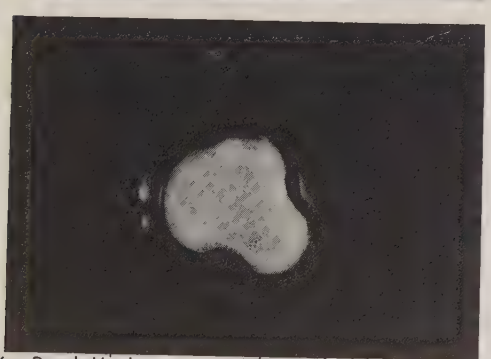


Abb. 6: Durch H^+-Ionen ausgerichtete Flächengele eines Kollagen-CHS-Symplexes. 2fach. Kapilläre Struktur.

Zentripetalwachstum:

Läßt man umgekehrt Soltropfen in eine Elektrolytlösung fallen, so entstehen Gelsphärite mit schaliger Orientierung. Außer diesen drei hauptsächlichen Möglichkeiten gibt es alle Variationen dieser wie das Ausrichten eines in einer oder um eine beliebige Form herum befindlichen Sols.

3. Das ionotrope Gel als Modell

Aus der Erkenntnis, daß mittels Ionotropie Modelle dargestellt werden können, welche allen Bedingungen genügen, die man bisher an die biologische Struktur stellt, wurden eine Reihe verschiedener biologischer Gewebe nachgebaut.

AA. Sphärite:

Tropft man Sol in Elektrolytlösung, so entsteht um jeden Tropfen herum sofort eine Membran. Da nun die Orientierung dieses Geltropfens nach dem allgemein gültigen Prinzip der Ionotropie abläuft, entsteht eine Struktur, die sich entsprechend dem zentripetalen Ionenstrom ausrichtet und somit die Fadenmoleküle kugelschalen-konzentrisch anordnet. Eine Tagentialstruktur hat sich gebildet, Abb. 7, nächste Seite. Ob hierbei Kapillaren entstehen, hängt - wie erwähnt - von den Versuchsbedingungen ab. Diese Struktur ist mit der eines Stärkekornes oder einer Perle verglichen worden. Auch im Zahn gibt es ähnliche Strukturen.

BB. Osteone:

Von Interesse ist das Modell der Osteone mit zentrifugalem Ionenstrom. Im natürlichen Vorbild, wie im ionotropen Gel in vitro finden wir den isotropen, zentralen Haverskanal, zentrifugales Wachstum, tangentiale Fadenmoleküle, gleiche Dimensionen, Grundlamellen, Breccien und Trabekeln, THIELE, H.[134], Abb. 5, Seite 10.

CC. Haut und Aorta:

Die Haut wurde - als ionotropes Gel betrachtet - zu einem viskosen, doppelbrechenden Sol gelöst. Aus diesem Sol wurde durch Eindiffundieren von Ionen

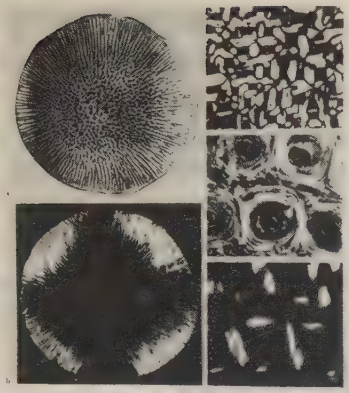


Abb. 7a: Annarrhichas lupus, Zahn a) Querschliff, b) sgl. Pol. +, 20 : 1, c) Trabeculardentin der Mitte des Querschliffes, Pol. X, 100 : 1, d), e) dgl. bei stärkerer Vergrößerung, und zwar d) gewöhnliches Licht, e) Pol. X, 375 : 1. Ausfüllung der Zahnmarkkanäle. a), b) Urbild, c), d), e) neu. SCHMIDT, W.J. (1954).

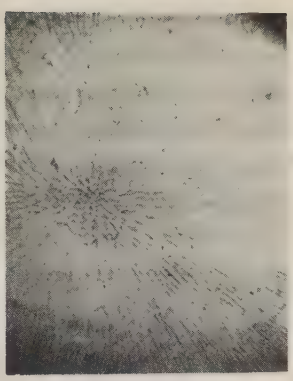


Abb. 7b: Zahnmodell. Vergleich zu Bild a). 2 %iges Cd-Alginat ionotrop mit zentripetalen Kapillaren. THIELE, H.; Bild 2 ZEISS-MITTLGEN 7, (1962).

wieder ein anisotropes Gel als Haut erhalten (THIELE, H. und SCHÜTT, W. unveröffentlicht).

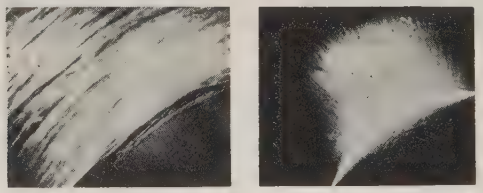
DD. Weitere Modelle:

Weiterhin wurde die Mineralisation von Muschel, Perle, Knochen und Zahn untersucht.

4. Symplexe

Proteine wie Conchin, Kollagen, Albumin oder andere lassen sich als Fadenmoleküle allein ausrichten. In vivo liegen Symplexe vor. In diesen sind dem Protein andere Fadenmoleküle beigegeben, und zwar hauptsächlich Mucopolysaccharide oder Polyuronsäuren. Polyuronide und Proteine bilden miteinander orientierbare Symplexe.

Man kann in vitro unter gewissen Bedingungen zwei Polyionen mischen, nämlich dann, wenn der eine Symplexpartner nur eine schwache Ladung hat oder wenn er als Amphiion die gleiche Ladung besitzt, wie das zweite Polyion, oder wenn der eine Partner sich im Überschuß des anderen zu lösen vermag. Um ein ionotropes Gel aus einem solchen Symplex zu erhalten, genügt es nun, H^+- oder OH^--Ionen in das Sol eindiffundieren zu lassen. Die pH-Zahl ändert sich und damit die Ladung der Partner. Ein ionotropes Gel entsteht, indem die Fadenmoleküle beider Partner orientiert vernetzt sind.



a. b.

Abb. 8: Ionotroper Symplex aus denaturiertem Ovalbumin und Alginat, durch H^+-Ionen ausgerichtet (nach THIELE, H.).
a) Linsenzone
b) Kapillarzone. Kap. $\varnothing$ = 1 µ

Abb. 8 zeigt einen natürlichen Symplex aus denaturiertem Ovalbumin und Alginsäure. Hierher gehören auch die Symplexe aus Kollagen mit Mucopolysacchariden und Polyuronsäuren. Das anisotrope Symplexgel besteht aus zwei Polyelektrolyten, welche sich im Gelverband abwechseln - es sind zwei ineinandergestellte, räumliche Netze, die sich noch bis zu einem Konzentrationsminimum von 0,001 % in ihrem IEP (isoelektrischer Punkt) bilden. Sie sind reversibel zum Sol löslich. Weiterhin kann man den einen Partner, etwa das MPS, aus der Struktur herauslösen, ohne daß diese zusammenbricht.

5. Das kapilläre Strukturgel als Dentinmodell

Schon bei äußerlicher Betrachtung des Aufbaus ionotroper Gele fällt die große Ähnlichkeit mit einer demineralisierten Dentinmatrix auf (siehe Kapitel B, I,

e, 1, CC.). Versucht man nun, die beiden Strukturen genauer zu vergleichen, stößt man auf eine Schwierigkeit: Von der Zahnhartsubstanz - vom Schmelz mehr als vom Dentin - gibt es kein einheitliches Bild. Aus diesem Grunde befaßt sich die Arbeit nur am Rande mit der organischen Schmelzmatrix. Vor der eigentlichen Aufgabe - dem Vergleich des zahnmedizinischen Bildes mit dem der Modellsubstanz - muß daher aus einer Vielzahl bestehender Bilder ein gültiges und einheitliches herausgearbeitet werden. Dieses Bild, das ohne Zweifel für den angestrebten Vergleich in die Einzelheiten gehen muß, soll in einem deskriptiven Teil vorangestellt werden, um darauf die Synopsis folgen zu lassen.

II. DENTINMATRIX ALS GEL

Viele Untersuchungen sind über das Dentin, seine Genese, Struktur und Charakteristika auch auf chemischem Gebiet in der Literatur bekannt. Die Ergebnisse lassen in ihrer Genauigkeit keinen Zweifel über Art und Zusammensetzung der Struktur zu. Die Dentinentwicklung ist in allen Phasen exakt beschrieben. Das Ergebnis bietet ein buntes Bild teilweise gegensätzlicher Ansichten. Viele Beweise werden mit Hilfe elektronenmikroskopischer Aufnahmen geführt. Leider ist ein bestimmtes Gewebe weder mit dem Elektronenmikroskop noch durch chemische Analysen, Röntgenbeugung und andere neue Untersuchungsmethoden gut nachzuweisen - nämlich die "lebende" Substanz selbst.

Das elektronenmikroskopische Bild kann durch Artefakte wie jedes andere mikroskopische Bild täuschen. Die chemische Analyse zeigt die Bausteine nur in ihren Bruchstücken. Die Röntgenbeugung ergibt ein unscharfes Bild. Das Objekt paßt sich keinem Aggregatzustand an, reagiert empfindlich auf kleine Milieuänderungen und verändert sich schnell unter dem Einfluß von Enzymen und Fermenten, was seine Handhabung im Versuch schwierig gestaltet.

Wie später beschrieben, sprechen einige Autoren wie beispielsweise V. EBNER, 1897, WOHLBACH und HOWE, 1926, DALLENDORF, 1938 schon seit längerer

Zeit von der Zahnmatrix als kolloider Substanz. Allerdings wird nicht berücksichtigt, daß diese auch wie ein Gel entstanden sein muß und reagiert. Daher stellt sich für diese Arbeit erstens die Frage, ob es sich bei dem Gewebe überhaupt um ein Gel handelt und ob es möglich ist, aus der gelösten Substanz ein kolloidchemisches Strukturmodell nachzubauen.

Zu diesem Zweck mußte der organische Baustoff der Dentinmatrix rein dargestellt, in kolloide Lösung gebracht und dann restrukturiert werden. Als nächste Aufgabe war die Modellstruktur mit der des Dentins zu vergleichen. Daher wird nach einer Beschreibung der Versuche jede Einzelheit der geschilderten Dentinmatrix mit der entsprechenden Eigenart der Modelltextur verglichen.

a. Dentin und Strukturgel

Da es sich bei der organischen Matrix des Dentins um ein Kolloid handelt, muß sie zwangsläufig als solches zu ihrer Quelle zurück verfolgbar sein. Die Matrix ist reversibel quellbar. Man kann sie in ein Sol verwandeln und daraus wieder restrukturieren. Um den Begriff einer kolloiden Leitstruktur auch von der medizinischen Sicht aus zu untermauern, sollen vom ersten Auftreten des Praedentins bis zur fertigentwickelten Matrix Parallelen zur Bildung eines strukturierten Gels aufgezeigt werden.

Dentin:

1. Entstehung der organischen Matrix

Als Beginn der Entwicklung der Zähne wird die Einstülpung des Mundhöhlenepithels beim Embryo angesehen. Hierdurch wird gleichzeitig die Dentinbildung organisiert. Aus dem Epithel entstehen Bänder, die Zahnleiste, daraus 10 Knoten, die zu Kappen und schließlich zu Glocken werden. Es entwickelt sich eine generelle und eine laterale Leiste, Schmelzmulde und Schmelznische. Die Differenzierung des Epithels beginnt bei einer Fetenlänge von 2,6 cm. Im Inneren und der Randzone der Glocke lockert sich das Epithel auf und bildet die Schmelzpulpa und das äußere und innere Schmelzepithel. Die Ersatzleiste stellt den Keim für den Ersatzzahn. Bei einer Keimeslänge von 15 cm erfolgt in einer

weiteren Verdichtung des inneren Schmelzepithels die erste Hartsubstanzbildung, MEYER, W. (1). Dies betrifft die Organteile epithelialer Herkunft; das eigentliche Dentinorgan bindegewebiger Abstammung zeigt folgende Entwicklungsphasen:

Fetenlänge	Entwicklung
1,7 cm	Keine Differenzierung.
2,1 cm	Bindegewebszellverdichtungen um den Zahnkeim.
8,7 cm	Zellanhäufung um das Epithel mit Organisation; Einschluß der Bindegewebszellen in die Glocke = primitive Pulpa. Derbbindegewebiger Mantel umgibt den Keim, MEYER, W. (1).
14,0 cm	Beginn der Kronenbildung (Abb. 9, unten).

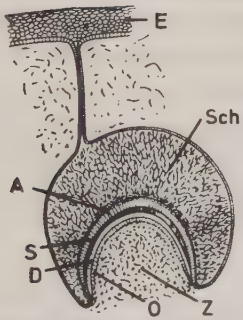


Abb. 9: Zeichnung vom Frühstadium der Zahnentwicklung. Dermale und epidermale Anteile der Struktur. Der Zahn besteht aus Dentin, sezerniert von den Dermalzellen der Zahnpapille, welches überkappt wird von den Ameloblasten des Schmelzorgans, das von den basalen Schichten der Epidermis stammt. Der keratinöse Bestandteil findet sich im Schmelz. Umzeichnung von HYMAN (1947).

S = Schmelz, Z = Zahnpapille, E = Epidermis, Sch= Schmelzorgan, A = Ameloblasten, O = Odontoblasten.

Das Dentinorgan differenziert sich aus der Bindegewebsansammlung - Zahnpapille -,

der späteren Pulpa. Hier bilden sich die Odontoblasten, die sich den Ameloblasten gegenüber aufstellen, MEYER, W.[1]. Es folgen Größenzunahme und Formveränderung wie Organisierung der cytoplasmatischen Organellen. Die endoplasmasche Retikulummembran erscheint durch einen Prozeß von Aufbrechen oder Evaginieren als Quelle winziger Vesikeln, NOBLE, H. W.[68].

In der weiteren Beschreibung trennen sich die Ansichten. Übereinstimmung herrscht darüber, daß die Odontoblasten die Matrix liefern. Wie deren Bildung mit der Zelle zusammenhängt, ergibt viele Theorien:

1. Abgabe einer homogenen Substanz mit sich daraus entwickelnden Fasern.
2. Abgabe homogener Substanz mit faserigen Bestandteilen.
3. Abgabe von Fasern.

Eine - für den Cytologen - bedeutende Frage scheint zu sein, ob eine solche Substanz intra- oder extrazellulär gebildet wird. REICHERT (1845) wies in diesem Zusammenhang darauf hin, daß Bestandteile des tierischen Körpers, die nicht in Zusammenhang mit Zellen standen, durch das Protoplasma oder als Resultat einer Zellaktion gebildet worden sein müßten; er führt die Idee der Zellsekretion in diesem Zusammenhang ein.

Nach VIRCHOW (1852) gibt es außerhalb der Zelle kein Leben. Demnach können alle Zellsekrete und jede Faser, wenn extrazellulär, nicht länger als lebende Materie angesehen werden. 1858 sah er sich jedoch genötigt, der Sekretionstheorie Zugeständnisse zu machen.

Allgemein wurde anerkannt, daß, was immer die endgültige Form der Fasern sein mochte, ihre Bildung von örtlicher Zellaktivität abhinge, BRACHET, J.[47]. Allen denkbaren Variationsmöglichkeiten der Faserbildung ist wohl seither in irgendeiner Art Ausdruck verliehen worden. Aus den vielen Arbeiten wie von REMAK, 1852, DE BARY, 1859, SCHULTZE, 1861, KÖLLICKER, 1861, BOLL, 1872, YOUNG, R. W.[74], STEPHEN[37b] seien nur einige zitiert:

LUKJENOW (1897) hält die Grundsubstanz für homogen und cytoplasmatischen Ursprungs. Die Fasern werden innerhalb der Gewebsflüssigkeit oder in einer Zwischen-

phase gebildet. Diese Idee wurde weiterentwickelt von STUDNICKA (1902): Die Grundsubstanz wird schließlich extrazellulär und ist in diesem Stadium immer noch fähig, Fasern zu bilden. Nach V. EBNER (1897) ist Faserbildung ein Resultat physiologischer Kräfte, die auf ein kolloides, sekretorisches Produkt von Zellen wirken.

Über die Fibrogenese schreibt LITTLE, K.[116]: Kollagen scheint nicht im Cytoplasma, sondern an der Zellaußenwand gebildet zu werden. Gehört, wie beim Kollagen, eine Familie Polymerer zusammen, so findet man innerhalb dieser unterschiedliche Eigenschaften wie Faserdurchmesser und Löslichkeit. Dagegen ist es nicht verwunderlich, wenn im Gelekknorpel die Kollagenfasern aus der Lösung in der Gewebsflüssigkeit auf die Grundsubstanz abgeschieden worden sind, ohne daß eine erkennbare Beziehung zu einer Zelle in der Nachbarschaft bestünde. Daß Kollagenfasern nicht von den Odontoblasten abgegeben werden, bestätigen nach MEYER, W.[1], WEIDENREICH und ORBAN. RASCHKOW spricht von einer membrana praeformativa, einer blassen, zellosen Schicht.

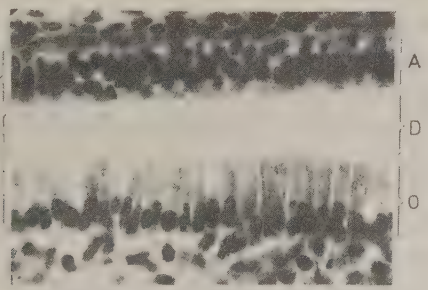


Abb. 10: Längsschnitt durch die Bildungszone der Zahnhartsubstanz nach MEYER, W.
O = Odontoblasten; A = Ameloblasten; D = Dentin.
Vergrößerung etwa 800 : 1

Diese membrana praeformativa wird später etwas dicker und stärker lichtbrechend. Er findet eine gleiche Substanz zwischen den Odontoblasten, das Praedentin. Dies geht dann in die unverkalkte, strukturierte Substanz über. Die Kollagenfasern tre-

ten sofort senkrecht zu den Odontoblasten als Fäserchen auf, v. EBNER [7].

Manteldentin und Schmelz-Dentin-Grenze:

Andere Autoren wie FASSKE[104] kamen zu einem ähnlichen Ergebnis: Die erste Dentinlage hat den Charakter einer verdickten, fibrillär gebauten Basalmembran mit tangential gerichteter Faserung, in die Fasern mit radiärer Richtung von der Pulpa her einstrahlen. Sie stellen das Manteldentin dar. Das Dickenwachstum beruht nach FASSKE auf einem anderen Prozeß. Seine Masse entsteht auf dem Wege der Abscheidung oder Ausflockung, sie ist jedoch von vornherein in feinste Fibrillen differenziert.

Nach GRÄFF und VOSTEEN[26] beginnt die Entwicklung der Hartsubstanz am Ende des vierten Embryonalmonats mit der Bildung des Praedentin, in welches doppelbrechende Fasern in eine amorphe, von den Odontoblasten gebildete Eiweißmasse aufgenommen werden. Weitere Aufklärung über die Bildung des Matrixeiweiß gibt die Autoradiographie, KARPISHKA, J.[58], vermittels Injektion von markiertem Methionin bei Ratten durch S^{35}, C^{14} oder H^3. Im Dentinorgan tritt im Odontoblastenprotoplasma ein Protein auf, vermutlich Kollagen oder eine Vorstufe, und wird dann in Dentinkollagen überführt. Dies führt zu dem Schluß, daß das Material, das in der Zelle erscheint, eine Vorstufe der markierten Komponente im Praedentin ist. Versuche von CARNEIRO und LEBLOND (1959) mit markiertem Glycerin führten zu ähnlichen Ergebnissen.

Von der Grenze zwischen Schmelz und Dentin nahmen HUXLEY und NUNN (1882) an, daß sie sich erst bei der Mineralisation bildet. Heute herrscht vielfach die Meinung, daß diese Grenze aus einer Membran besteht. Sie ist mit der folgenden Matrix verschmolzen, GRÄFF, S.[26], QUIGLEY, M. B.[45].

Nach SCHMITZ, E.[16] setzt bei den organischen Bausteinen durch Ca^{++}-Ionen eine Synthese zu komplexeren Gebilden ein, die ihnen die Löslichkeit nimmt und kolloide Beschaffenheit gibt.
Im weiteren Verlauf der Entwicklung wird das Praedentin zu Dentin strukturiert. Die sich bildenden Strukturen sollen folgend eingehender erörtert werden.

2. Struktur der Dentinmatrix

In der Unterteilung der Kapitel in eines der Genese und eines der Struktur des Zahnbeins liegt insofern schon ein Fehler, als man alle Geschehen, die den Organismus betreffen - selbst beim bradytrophen, "toten" Gewebe Dentin -, nicht gliedern kann. Die Struktur wird nicht nur in der Entwicklungsphase gebildet, sie wird auch späterhin geprägt und macht einen kontinuierlichen Wandel durch, wird an einigen Stellen neu gebildet und altert an anderen. Daher trifft für eine Beschreibung der Struktur noch mehr zu, was man schon für die Genese hätte sagen können: Der Ausdruck normaler Zahn ist eine statistische Abstraktion. Sogar im einzelnen Zahn besteht ein Unterschied in der Zusammensetzung an verschiedenen Stellen, LEICESTER, H. M.[38]. Das Dentin stellt die Hauptmasse und innere Hartgewebsschicht des Zahnes dar. Es wird eingeteilt in Kronen- und Wurzeldentin und grenzt außen an Zement und Schmelz. Horizontal unterteilt man in äußeres Mantel- und inneres Pulpärdentin. Im Zentrum umschließt es die Pulpenkammer. Eine Matrix aus hauptsächlich Kollagen bildet sein Strukturgerüst, welches bei der Reifung durch Mineral ausgefüllt und gehärtet wird.

Matrix:

EASTOE[108] sagt über den Begriff Matrix, daß dessen Bedeutung allgemeiner geworden sei, als die Übersetzung es zuließe. Matrix bezeichnet den Ort, das Medium, wo etwas entsteht oder sich entwickelt. Sie besteht, bevor irgendetwas gebildet wird, nimmt an dessen Entwicklung teil und schließt dies räumlich ein. Schließlich überläßt sie das, was von ihr gebildet wurde, verhältnismäßig ungeschützt dem Einfluß der äußeren Umgebung. Die hauptsächlichen organischen Bestandteile besitzen einen kolloidchemisch ähnlichen Bau, so daß sie weitgehend übereinstimmend reagieren müssen; Knochen, Dentin und Zement enthalten Kollagen[108].

Die Bausteine der Matrix wurden vielfach untersucht und definiert. In den Ergebnissen wie von RICH und CRICK (1961), BRACHET, J.[47], EASTOE, J. E.[108] und HODGE[111] wird die Aggregation der Fadenmoleküle analog der Ergebnisse

von PAULING und COREY als in Helices angeordnet beschrieben. HODGE hält auch bestimmte Glycoproteine als Beimengungen zum Tropokollagen für dessen Anordnung für ursächlich. Dies ist eine weitere Bestätigung für die Bedeutung der Mucopolysaccharide im Kollagen. Die Dentinfibrille wird als 0,3 u dick und einachsig positiv doppelbrechend beschrieben, V. EBNER[7], BRACHET, J.[47]. Über ihre Anordnung innerhalb eines Netzwerkes kleinerer Elemente bestehen verschiedene Ansichten. In der Mehrzahl der Beobachtungen schneiden die Fibrillen die Dentinkanälchen im rechten Winkel, was MEYER, W.[1] nur im kariösen Dentin sichtbar machen konnte. Eine solche Ausrichtung wurde von vielen Autoren beschrieben. HÖHLING (1960)[110] schreibt über die Kollagenfibrillen in der Grundsubstanz, daß sie Querstreifung besitzen und in feine, stäbchenförmige Grundelemente von 8 mμ (6 - 12 mμ) auffasern. Er beschreibt ihre Lagerung als in ungerichteter Orientierung netzartig angeordnet gegenüber dem Schmelz.
Nach KOHARI, S.[112] laufen die Fibrillen in mannigfacher Richtung ab.

SCHMIDT (1939)[38] hält die Kollagenfasern für ausgerichtet. Hiernach kommt die Orientierung der Apatitkristalle durch eine solche Ausrichtung zustande. Fehlt diese, so kann daraus nur eine Mineralisation von ungerichteten Massen mineralisierten Materials entstehen. Er schließt, daß viele Fehlbildungen logischerweise als Ergebnisse eines Fehlers bei der Bildung der Kollagenfasern angesehen werden können.

Nach WOHLBACH und HOWE (1926) und DALLENDORF (1938) liegt der Fehler in einer fehlgeleiteten Gelation einer kolloiden Flüssigkeit oder in der spezifischen Wechselbeziehung mit den kollagenbildenden Zellen, LEICESTER, H. M.[38].

Dentinkanälchen:

Nach dem Aufbau der membrana limitans und einer dünnen Schicht Manteldentins setzt die Kapillarbildung ein. Die folgende Abbildung 11 zeigt die Schmelz-Dentin-Grenze in starker Vergrößerung. Man kann gut den hellen Streifen der membrana limitans erkennen. Im ersten Stadium der Kapillarbildung treten die

sogenannten Verzweigungen in den Kanälchen auf, über die später noch eingehend diskutiert werden soll. Das fertige Dentin ist in charakteristischer Weise von den Dentinkanälchen durchsetzt, SCHMIDT, W. J.[(2)]. Sie lassen sich in ihrem Verlauf mit Bestimmtheit von der Schmelz-Dentin-Grenze an bis in das Praedentin hinein verfolgen. In einigen Berichten wird der Verlauf bis über diese Grenzen hinaus angegeben. Diese Beobachtungen müssen jedoch wohl als Ausnahmen einer Regel angesehen werden.

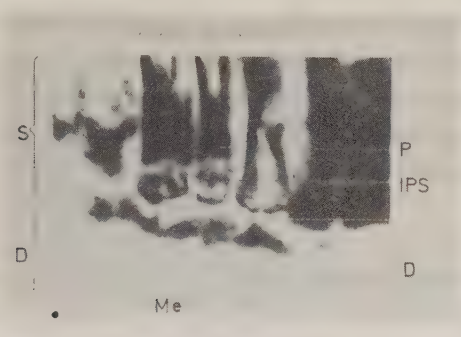


Abb. 11: Schmelz-Dentin-Grenze. Haematoxylinfärbung; etwa 4000 : 1.
D = Dentin, S = Schmelz, M = membrana limitans, P = Prisma,
IPS = interprismatische Substanz, nach MEYER, W.

Die Dentinkanälchen sind in Durchmesser, Anstieg und Häufigkeit oft untersucht worden. Für den menschlichen Zahn fand MEYER, W. (1951) folgende Werte:

Durchmesser		Verteilung
3 - 4 µ	pulpal	15 000/mm^2
1 µ	periph.	75 000/mm^2

Steigung	Verhältnis
	pulpal zu periph.
1 : 4	1 : 5

Nach diesem Autor sind die Dentinkanälchen einfache Aussparungen in der Grund-

substanz, ihre Wandung ist kein Gebilde eigener Art. Diese Feststellung steht zwar im Widerspruch zu den früheren Ansichten, daß der Dentinkanal innen ausgekleidet sei mit der NEUMANNschen Scheide, HANAZAWE, K.[10], aber ihre Existenz wird heute von vielen Autoren bestritten. Nach JOHANSEN [124] ergibt eine membranöse Struktur, welche mit der umgebenden Matrix zusammenzuhängen scheint, das Lumen des Dentinkanals.

Diese Angaben zeigen die verschiedenen Ansichten über den Aufbau der Dentinkanalwandung. Die hellen peritubulären Ringe werden gleichermaßen als verstärkte Mineralisation wie als optisch illusorischer Effekt gedeutet, VAN HUYSEN, G.[52]. Obwohl die Informationen über die Entstehung bisher noch spärlich sind, scheinen die Untersuchungen anzuzeigen, daß die Struktur ihren Ursprung während des Frühstadiums der Dentinmineralisation hat.

Odontoblastenfortsatz:

Im Dentinkanal liegt der so oft erwähnte und so häufig beschriebene Odontoblastenfortsatz, auch TOMESsche Faser genannt. Er soll sich, obwohl die Zelle sezerniert, obwohl eine homogene Schicht Praedentins, die membrana praeformativa, bestehen soll und obwohl eine Zellmembran nur schwer bis nicht über das sezernierende Ende der Zelle hinaus zu verfolgen ist und die Dentinkanälchen als Aufzweigungen bezeichnete Vereinigungen besitzer., von der Odontoblastenzelle bis zur Schmelz-Dentin-Grenze und teilweise sogar darüber hinaus verfolgen lassen. Ihm wird nicht nur die Fähigkeit zugeschrieben, ein ewiges Leben zu besitzen, sondern auch, die Leitstruktur in ihrer Substanz zu bilden, sie außerdem sowohl zu formen als auch zu strukturieren und die Kollagenfasern auszurichten wie auch zu mineralisieren und obendrein sensible Qualitäten zu besitzen.

Zwischen Fortsatz und Kanalwandung befindet sich wahrscheinlich Liquor[4, 26, 33, 34, 41, 45, 104, 122]. Weiter wird beschrieben, daß die Odontoblasten dicht beieinander stehen und daß sie, wie das von anderen sekretorischen Zellen des Organismus auch bekannt ist, ein Arbeits- und ein Ruhestadium haben. In dieser Phase sollen sie sich zwischen die Nachbarzellen zurückziehen. Nach anderen

Meinungen ist den Fortsätzen jede Bedeutung bei der Genese und jede formende Eigenschaft abzusprechen. Faßt man alle diese Ergebnisse zusammen, so kommt man zu dem Schluß, daß, wenn der TOMESsche Fortsatz ein Cytoplasmaausläufer der Zelle ist, der von ihr im Dentinkanal während der Genese zurückgelassen wird, dieser ganz spezielle, einzigartige und oft konträre Bedingungen erfüllt. Hierzu gehört auch die Frage der Verzweigungen.

Abb. 12: Dentinkanäle, Endaufgabelungen. Schliff, Fuchsinfärbung. Vergrößerung etwa 800 : 1.
D = Dentin, S = Schmelz, nach MEYER, W.

Diese vielen offenen Fragen gestatten nicht, einen einheitlichen Eindruck über die Art und Bedeutung des Fortsatzes zu vermitteln und zu einem Bild abzurunden. Ein Vergleich mit der Modelltextur ist in diesem Punkte nicht möglich.

Eine weitere Struktureigenschaft des Dentins sind die globulären Bildungen, die auch als TOMESsche Granularschicht[1, 2, 56, 104] bekannt sind, Abb. 13, nächste Seite. Für den Vergleich ist von Bedeutung, ob diese Bildungen nur

die Mineralkomponente des Dentins oder auch dessen Matrix selbst betreffen. Auch hier bestehen verschiedene Ansichten:

Nach SCHMIDT, H. (1961) handelt es sich bei den Interglobularräumen (IGR) um echte Hohlräume. Die Dentinkanälchen laufen nicht durch die Räume hindurch - einige umgehen diese. Andere Autoren beschreiben die IGR als spaltförmige, flächig-räumliche Gebilde, echte Hohlräume ohne Kommunizieren mit den Dentinkanälchen, FASSKE[104]. Oder eine Grundsubstanz mit Kollagenfibrillen und Dentinkanälchen ist vorhanden. Die Kanäle sind hier etwas erweitert, MEYER, W.[2]. Faßt man diese Ansichten zusammen, so ergibt sich das wahrscheinliche Bild der Interglobularräume als Phänomen der Mineralisation und nicht der organischen Struktur der Matrix, LEICESTER, H.[38].

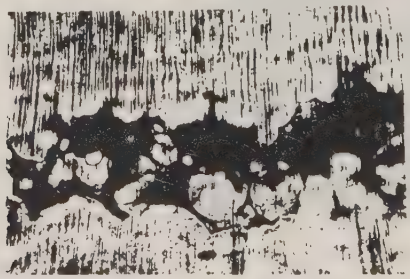


Abb. 13: Interglobulardentin, stärker vergrößert, 400 : 1, Fuchsin-Färbung, nach MEYER, W.

Es erübrigt sich daher, die Modellsubstanz zum Vergleich heranzuziehen. Eine weitere Strukturbesonderheit wäre im Sekundärdentin zu suchen, welches nach REICH in solches erster, zweiter und dritter Ordnung eingeteilt werden kann. Es wird auch als Irregulär- oder Reizdentin erwähnt. Die letzten beiden Bezeichnungen geben Aufschluß über die Art und das Zustandekommen, denn dieses ungleichmäßig strukturierte, oft dunkelfarbige Zahnbein wird hauptsächlich an Stellen im

Pulpenkavum angelegt, wo äußere Reize besonders stark auf die Pulpa einwirken.

DENTIKEL

Andere Fehlbildungen wie die Dentikel oder Odontome haben eine Struktur, die entweder nicht kapillär ist, sondern eine zwiebelschalige Anordnung aufweist wie eine Perle, oder sie besitzen radiär verlaufende Kanälchen. Bildungen dieser Art können ebenfalls im Modell dargestellt werden.

3. Chemische Beschaffenheit

Das menschliche Dentin schwankt in seiner Zusammensetzung nicht nur bei verschiedenen Individuen, nicht nur in verschiedenen Zähnen, sondern auch im Zahn und im Teil desselben auf engem Raum. Die angegebenen Werte sind daher Durchschnittswerte.

Wassergehalt = 10 %
Mineralgehalt = 70 %
N-Gehalt = 3 %, nach ARMSTRONG = 15 %
nach BERLINER = 0,5 - 2 %
Org. Subst. = 20 %, davon Kollagen = 90 %
(AEBY = 27,7 %, BERTZ = 29,15 %)
(BERZELIUS = 28 %, V. BIBRA = 28,70; 28,01, 21,00 %)
(COHN = 28,39 %), FREUD, E.[8]

BENNEJANT stellte unter 1 % Tyrosin fest.
PINCUS: MPS (wie andere)[33, 35b, 59, 111].
HESS u. LEE: 0,7 % Chondroitinschwefelsre.
LEOPOLD, HESS, CHARTER: wenige mg Cholesterin, CREMER, H.D.[13].
V. EBNER: Organische Substanz aus löslichem Albuminat, FREUD, E.[8].
Der Citratgehalt, LEACH, S.A.[51] wird mit 0,9 % angegeben, SOLMS, C.C.[33].
THUNBER, G. (1941): 0,6 % Citronensäure.
Die organische Matrix soll hauptsächlich aus Kollagen[41, 96] mit kleinen Mengen MPS bestehen, welches dem Chondroitinsulfat ähnlich sein soll.

Auf die große Bedeutung der Mucopolysaccharide (MPS) einmal als Symplexbildner, anderseits in ihrer Rolle bei der Mineralisation wird noch eingegangen. Aufschlüsselungen der stereochemischen Zusammensetzung der Dentinkollagenmoleküle aus den einzelnen Aminosäuren sollen hier nicht zitiert werden, da, so bedeutungsvoll die Kenntnis darüber sein mag, die Zusammensetzung hier insofern keine Rolle spielt, als sie bei den folgenden Versuchen nicht nachweislich verändert wird.

Das Dentinkollagen ist ein Albuminoidprotein. Ähnliche Substanzen kommen in Ligamenten, Sehnen und Knochen vor. Sie stellen einen Anteil von 30 % der Körperproteine dar und 70 % der Körperreserven an Glycin, Prolin und Hydroxyprolin. Das faserartige Fadenmolekül besteht aus drei koaxial-helicalen Polypeptidketten mit 30 Aminosäuren pro Windung und ungefähr sieben Windungen in jeder sich wiederholenden Einheit, die 618 Å lang ist. Die hexagonale Bündelung ist stabilisiert durch Kreuzbindungen mit Hydroxyprolinseitengruppen, GELLER, J. H.[83]. Eine Untersuchung von GREULICH (1958) zeigt Beziehungen der Trockensubstanzverteilung der organischen Matrix im Zahn auf. Nach GREULICH[77] ist peripher der Gehalt an organischer Trockensubstanz größer als in der übrigen Dentinmatrix.

4. Polysaccharide; Symplexe in vivo und in vitro

Polysaccharide sind Fadenmoleküle aus Monosaccharidbausteinen, die eine kolloide Substanz ergeben. In diese Gruppe gehört die tierische Stärke, das Glycogen, die Cellulose, das Chitin und das Inulin aus Dahlienknollen.

Mucopolysaccharide:

Man rechnete sie früher zu den Glycoproteiden; heute bilden sie eine Gruppe für sich. Sie kommen vor im Sekret von Schleimhäuten, frei oder gebunden an Eiweiß in Körpergeweben wie z.B. bei den Chondroproteiden des Knorpels, im Glaskörper des Auges und reichlich in der Nabelschnur. Dem Alginat, einer Polymanuronsäure aus Meeresalgen entspricht das Pektin der Landpflanzen, eine Polygalacturonsäure. Mucopolysaccharide sind auch in der Zahnmatrix nachgewiesen[26, 33, 47, 64, 75, 81, 95]. Ihnen wird unterschiedliche Bedeutung zuerkannt. Sowohl mit der

Bildung der Matrix wie mit ihrer Mineralisation wurden sie in Zusammenhang gebracht. Einerseits werden sie als Stoffe angesehen, die den Aufbau hindern, anderseits sollen sie direkt am Aufbau des Zahnes beteiligt sein. SOLMS, IRVING, NEUMAN[33] sagen, daß saure MPS, besonders für die Ca-Bindefunktion des Chondroitinsulfats bei der Mineralisation zu beachten waren. BELANGER stellte die Ablagerung von S^{35} am Dentin-Praedentinübergang fest, dort wo die Mineralisation der Textur lokalisiert wird. LIPMAN fand an Embryonalknochen den Einschluß von Estersulfaten. IRVING wies an pyridinextrahierten Präparaten von Knochen, Knorpel und Dentin hochsulfatierte MPS während der Mineralisation nach, SOLMS[33]. EASTOE (1963)[75] betonte die Ähnlichkeit zwischen reifem und fetalem Dentin, fand jedoch einen Unterschied in der Menge der stark im Überschuß vertretenen Aminosäurereste, die er für durch MPS verunreinigt hielt.

SYMONS (1961)[64] zeigte durch Färbemethoden am Intermediatdentin, daß hier eine reiche Zone an Polysacchariden und speziell MPS vorliegt. Nach PEARSE (1960) zeigt Metachromasie mit Toluidinblau bei niedrigem pH MPS an, nach MOWRY (1956) erfolgt dies auch mit Alkainblau bei niedrigem pH. Die Färbbarkeit nimmt im fortlaufenden Entwicklungsstadium ab und findet sich später nur noch in der PTM. Daher schließen diese Autoren auf eine Förderung der Mineralisation durch MPS [64]. Auch QUINTARELLI (1961)[95] weist MPS in Zahnpapille und Dentin neugeborener Ratten nach. EASTOE u. EASTOE (1954) finden im Knochen 1,2 % Mucopolysaccharide.

Nach BANGA u. BALO (1960) ist Sialoprotein als Stabilisator in den Kollagenfibrillen vorhanden. MEYER (1959), HOFFMANN (1956), LINKER (1958) finden saure MPS und mutmaßen, daß sie reversible Bindungen mit anderen eingehen, BRACHET, J.[47]. KUMAMOTO u. LEBLOND (1958) fanden Kohlehydrate hohen Molekulargewichts in der Dentinmatrix. Neueren Berichten nach ist markierte Glukose eine Vorstufe bestimmter K.-H. in Schmelz und Dentin, KUMAMOTO, Y.[81]. FITTON JACKSON, S. weist ebenfalls Glycoproteine im Zusammenhang mit dem Knochenwachstum nach, BRACHET, J.[47]. VERNE u. WELL zeigen durch histochemische Methoden die Gegenwart von Schwefelsäureestern von Polysacchariden

und polymeren Polysacchariden in Schmelz, Dentin und den Blasten auf, GRÄFF, S.[26].

Zusammengefaßt ist festzustellen, daß in Regionen der Matrixbildung Mucopolysaccharide vorhanden sind. Sie sollen Kollagenstrukturen festigen und deren Mineralisation fördern. Dies steht im Einklang mit Beobachtungen an der Modellstruktur, Kapitel C, III.

III. Quintessenz und Zielsetzung

Sieht man das Dentin in Genese und Bau von kolloidchemischer Warte, so bestärkt sich die Vermutung, daß die Restrukturierung der in ihre Bausteine zerlegten Dentinmatrix in einer dem Körper ähnlichen Weise durchaus möglich ist.

Es ergeben sich viele Ähnlichkeiten zwischen Dentin und ionotropen Gelen, so daß der Versuch unternommen werden soll, eine dentinähnliche Substanz zu rekonstruieren.

C. MATERIALIEN UND METHODEN

- KAPILLÄRE STRUKTURGELE ALS MODELL FÜR DIE DENTINMATRIX -

Aus der Literatur ergibt sich die Versuchsanordnung. Aufbauend auf Untersuchungen von THIELE, H. werden ionotrope Gele dargestellt.

I. Versuchsübersicht

Versuch 1:
(Quellungsversuch, Konzentration)
2n NaOH quillt besser als 1n NaOH. Zur genaueren Definition:

Versuch 2:
(Konzentrationsstufen zur Quellung)

(2n, 1n, 1/2n, 1/4n, 1/8n, 1/16n NaOH)

halbe Normalität der Konzentration = doppelte Quellzeit,

2n NaOH quillt optimal.

Quellungsphasen visuell deutlich unterscheidbar.

Versuch 3:

(Quellzeit bei 2n NaOH und Menge der Quellflüss. bei Freiquellung, ohne Dialyseschlauch.)

Optimale Quellphase erreicht nach 20 Stdn bei Raumtemperatur.

Optimale Laugenmenge bei Freiquellung (ohne Membranschlauch) = 4faches Matrixvolumen.

Hier ergab sich die Frage, ob die Solkonzentration einen Einfluß auf die Restrukturierung hat. Daher:

Versuch 4:

(Soltrockensubstanzbestimmung im Wärmevakuum- und Heißumlufttrockenschrank.)

1 Std bei + 100° C ergab Werte von 0,5 - 1,1 % Kollagen.

Versuch 5:

Matrixschädigung durch Reinigen des noch nicht demineralisierten Zahnes mit 30 %-igem H_2O_2.

Versuch 8:

Versuch zur "sanften" Demineralisation mit Ionenaustauscher - Li^+ -. Ergebnis positiv. Matrix nicht weiter verarbeitet.

Versuch 9:

Demineralisation und Quellung von Schweinezähnen. Langdauernde Demineralisation (4 Wochen) mit H_3PO_2. Quellung in 2n NaOH gut.

Versuch 11:

Demineralisation und Quellung von Kalbszähnen.

Demineralisation mit H_3PO_2 etwa 2 Wochen.
Quellung in 2n NaOH gut. Unterschiedliche Quellzeiten an unterschiedlich mechanisch vorbereiteten Matrices.
Demineralisation: H_3PO_2 besser als Citronensäure, ganze Zähne besser als granulierte. Kalbsmatrix quillt schneller als vom Rind. Zerkleinert man die Zähne vor der Demineralisation, so verläuft diese wie auch die Quellung gleichmäßiger.

Versuch 10:
(Restrukturierungsversuche mit verschiedenen Solen.)
Kollagen allein ergibt schlechte Strukturgele ohne Kapillaren.
Symplexe aus Kollagen und Polysacchariden ergeben teilweise kapilläre Strukturgele. Folgende Elektrolytionenlösungen erscheinen geeignet:

$CdBr_2$	CdJ_2
Cu-Acetat	$Cu(NO_3)_2$.

Polysaccharide von besonderer Bedeutung für die Strukturbildung.

Versuch 12, 13, 14:
(Objektträgerreaktionen)
Demineralisation und Quellung unter dem Mikroskop verfolgt, vermögen anschaulich den Ablauf der Reaktion zu vermitteln. Keine Ausführungen, Versuch nicht im Rahmen dieser Arbeit.

Versuch 15:
(Einfluß der Quellzeit auf das resultierende Sol.)
Kein deutliches Bild in den Konzentrationen, da die Mengen NaOH unexakt dosiert waren.

Versuche dieser Art müssen anfangs mit unterdosierten Mengen NaOH an- und später im Dialyseschlauch weitergequollen werden (V. 27).

Versuch 16:
(Versuch mit Kollagen + Citronensäure-Gemisch).
Ergebnis zwar positiv, jedoch schwach, ohne Kapillaren.

Versuch 17:

(Restrukturierungsversuche)

$Cu(NO_3)_2$ besser als $Cd(NO_3)_2$

Chondroitinsulfat besser als Hyaluronsäure als Symplexpartner.

Quellungsoptimum auch hier 20 Stdn. Das Ergebnis mit in Literaturstellen (Kap. B, II, a, 3 u. 4) gefundenem Mucopolysaccharid (MPS) Chondroitinsulfat war besser.

Der Chondroitinsulfatanteil (CHS) muß auf das Sol eingestellt werden.

Versuch 18:

(CHS-Anteil-Abstimmung.)

Der Durchmesser der Küvetten, in denen das Gel strukturiert wurde, war zu klein. Die Kapillarbildung wurde behindert.

Versuch 19:

(Fortsetzung von V. 18 mit größerem Küvettendurchmesser und Stufen hoher MPS-Konzentrationen.)

Über 2,5 s% MPS ist das Gel instabil; um 1,0 s% Kapillarenbildung.

s% = Solprozent, d.h. der prozentuale Anteil des CHS ist auf die Gesamtmenge Sol, nicht auf dessen Trockensubstanzgehalt bezogen.

Versuch 20:

(Wie Versuch 18 mit kleinen CHS-Konz.-Stufen um den Wert 1,0 s% CHS liegend.)

Über 1,0 s% CHS - keine Kapill.-Bildung; um 0,1 s% CHS - gute Kapill.-Bildung.

Mucopolysaccharide beeinflussen wesentlich die Viskosität und Fließfähigkeit des Sols wie auch die Konsistenz und Kapillarität des Gels.

Versuch 21:

(Siehe Versuch 18)

Optimum CHS 0,15 - 0,20 s%.

Versuch 22 - 28:

(Siehe Versuch 18, viskoseres Sol.)

Größere Kapillarität durch höhere CHS-Konzentration.

Versuch 27:

(Der Endversuch wurde hier angesetzt, Beschreibung siehe dort und im Hauptteil.)

Versuch 29:

(Einfache Verdünnung eines Sols mit Aquadest., Einfluß auf Strukturierung.)
Ergebnis negativ. Hiernach spielt bei einem Sol weniger dessen Konzentration als vielmehr sein Quellungsstadium eine Rolle.

Versuch 30:

(H^+-Ionotropie, Milchsäure.)

Versuch (+).
H^+-Ionenkonzentration von großer Bedeutung für die Kapillarzahl, weniger für den Kapillardurchmesser (Ø etwa um 250 μ). (10fache Säurekonzentration $\approx$ doppelte Kapillarenzahl.)

Versuch 31:

(Wachstumsgeschwindigkeit.)
Sie steht in Abhängigkeit zu der Quellzeit, siehe auch Versuch 27.

Versuch 32:

(Siehe Versuch 30.)
Höhere Säurekonzentrationen (über 1n) ergeben eine starke sekundäre Schrumpfung. Die Kapillarität wird weit mehr durch den CHS-Anteil bestimmt.

Versuch 33:

(CHS-Konz.-Optimum bei 0,8n Milchsäure.)
Optimum: Kollagen 1,1 %ig + 0,4 s% CHS.

Versuch 34:

(S. Versuch 30.)

(H^+-Ionotropie mit Citronensäure.) Ergebnis ähnlich Milchsäure, mit etwas geringerer Kapillarität.

Versuch 35:

(Säure- und CHS-Konzentration; Milchsäure.)

Versuch zu 42 Proben in Abstufungen von Säurekonzentration und CHS-Konzentration; diese Art der Versuchsanordnung wird weiterhin ausschließlich durchgeführt.

Säurekonz.-Opt.: 0,1 - 0,3n (weniger Einfluß)

CHS-Konz.-Opt.: 0,25 s% (0,2 - 0,3 s%).

Versuch 36:

(Siehe Versuch 39 - 41.)

Versuch 37:

(Vgl. Versuch 35.)

(Säure- und CHS-Konzentration; Citronensäure)

(Säure- und CHS-Konzentration; Milchsäure)

OPTIMA

Säure	Säurekonzentration	CHS-Konzentration	Kapill.-Zahl	Kapill.-durchmesser
Citronen-	0,4n	0,30 s%	$6/mm^2$	250 µ
Milch-	0,4n	0,25 s%	$25/mm^2$	100 µ

Versuch 38:

(Beeinflussung der Andiffusionsgeschwindigkeit - Filter -.)

Ergebnis auf Strukturierung = (+)

" " Kapill.-Bildung = (-).

Das Filter darf nicht zu dicht sein. Daher:

Versuch 39:

(Siehe Versuch 38, aber CHS-Konz.- und Filterdicken-Abstufung.)

Auch hier ist die CHS-Konzentration von großem Einfluß. Die Kapillarität steigt mit der Filterdicke.

Versuch 40:

(Siehe Versuch 38 - durch oberflächenentspannte Milchsäure.)

Versuch (-) steigende CHS-Konzentration

= steigender Kapillaren-Ø

= bleibende Kapillarität.

Versuch 41:

(Siehe Versuch 38 - weitere Versuche -)

Ergebnis (-).

Versuch 42:

(Photographische Darstellung der Quellungsphasen.)

Siehe Bildserie 14, unten.

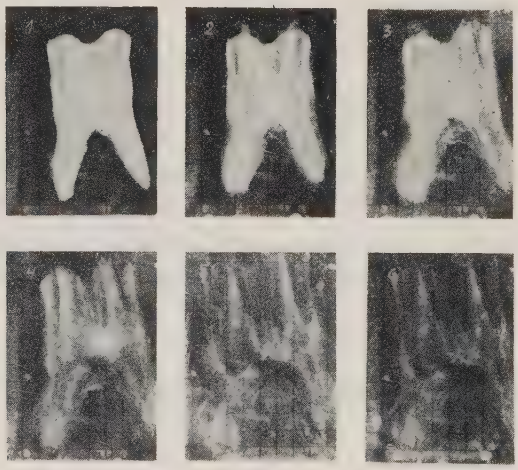


Abb. 14: Quellungsphasen der Dentinmatrix eines entmineralisierten Zahnes. 1/3 normale Größe
1. 3 Stdn, 2. 19 Stdn, 3. 27 Stdn, 4. 32 Stdn, 5, 47 Stdn, 6. 50 Stdn nach Versuchsbeginn, Raumtemperatur, 2n NaOH

Versuch 43:

Die Versuche 38 folgend hatten sich aus dem Versuch einer zahnähnlichen Formgestaltung ergeben. Bei Verwendung einer Hohlform aus einer Gelmembran vom gleichen Sol-Symplex wie für das Modell waren die Ergebnisse gut; der Versuch verlief positiv.

Der nächste Schritt, die Mineralisation der Leitstruktur, ist von THIELE, H., MICKE, H. und AWAD, A. bereits im Modell durchgeführt worden.

II. Kolloidchemische Analyse

- Strukturabbau -

Ergebnisse über Strukturgele nach THIELE, H. und Mitarbeitern erlauben einen Vergleich von ionotropen Gelen mit der Feinstruktur der Zahnhartsubstanz, speziell der Dentinleitstruktur. Von einem solchen Vergleich ausgehend soll darüber hinaus der makromolekulare Bau des Zahnbeins mit Dentinkollagen und Mucopolysacchariden auf die Eignung zum Abbau und zum Wiederaufbau einer der Dentinmatrix ähnlichen Struktur untersucht werden. Der erste Teil der Versuche befaßt sich mit der Darstellung dieser kolloiden Substanz, den Bausteinen der Matrix.

a. Ausgangsstoffe:

Ausgegangen wurde von Hautkollagen, nach THIELE, H. u. SCHÜTT, W., unveröffentlicht, und Zahnkollagen von Schwein und Rind. Zähne wurden in frischem Zustand mitsamt Kieferknochen vom Schlachthof angeliefert, teils sofort weiterverarbeitet, teils bei + 7° C aufbewahrt. Die Zähne wurden aus dem Knochen eliminiert, von Periodontalgewebe und Konkrementen gereinigt und hernach teils weiterverarbeitet, teils in einer Glycerin-Wasser-Mischung 1 : 1 bei + 7° C gelagert. Bei den anschließenden Versuchen wurde keine nachteilige Wirkung dieser Aufbewahrung auf die organische Zahnmatrix festgestellt. Reinigung mit H_2O_2 führte zu unphysiologischen Veränderungen der organischen Komponente der Zahnhartsubstanz. Nach Quellung der demineralisierten Zähne blieb in diesem Falle ein geringer weißlicher Rückstand von wahrscheinlich vom H_2O_2

denaturiertem Matrixeiweiß ungelöst zurück. Daher wurde nicht mit H_2O_2 behandelt. Nach Reinigung und bedarfsweiser Lagerung der Zähne erfolgte die Demineralisation des Gewebes.

b. Entmineralisierung:

Um den Hydroxylapatit so aus dem Gewebe zu entfernen, daß sich die organische Leitstruktur nicht veränderte, wurden verschiedene Verfahren erprobt.

1. Mit EDTA (Aethylendiamintetraacetat) als Chelator wurde nicht im Hauptversuch entkalkt, da diese Methode trotz guter Resultate eine zu lange Reaktionszeit beansprucht.

2. Citronensäure ergab im Vergleich zur dritten Methode (s.u.) eine gelbliche Verfärbung der Matrix. Außerdem geht die Demineralisation mit dieser Säure langsamer vor sich wie auch die folgende Quellung der Matrix, was sich aus Versuch 11 ergab. Siehe Tabelle zu Versuch 11 auf Seite 43 .

3. H_3PO_2 . Das Mittel der Wahl war die sanft und schnell wirkende, einbasige Säure H_3PO_2, die unterphosphorige Säure. Konzentrationen von über 25 % wurden vermieden, da in Versuchen diese Konzentration als ausreichend ermittelt wurde.

Weiterhin bestätigt Versuch 8, daß auch eine Demineralisation durch Ionenaustauscher möglich ist.

Demineralisation mit H_3PO_2:

Die Zähne wurden durch mehrfaches Waschen mit destilliertem Wasser von Glycerin gereinigt und entweder ganz oder in Granula von etwa 2 mm Größe in ein Gefäß gegeben. Sie wurden mit dem etwa 5fachen Volumen der Zahnsubstanz an 25 %iger Säure übergossen. Zur optimalen Wirkung wurde das Gefäß bei Raumtemperatur ständig auf dem Schwingtisch bewegt. Bei Berührung der Säure mit der Zahnsubstanz tritt die Reaktion unter schwacher Gasentwicklung ein. Bildet sich im Gefäß ein

großflockiger, weißer Niederschlag, so muß die Säure erneuert werden. Dies geschieht zweckmäßig anfangs alle 24 Stdn. Später bleibt die Säure über den sich mehr und mehr entmineralisierenden Zähnen klar, auch leichtes Umschwenken zeigt keine Schlieren in der Flüssigkeit mehr, woraus geschlossen werden kann, daß die Mineralbestandteile vollständig aus dem Gewebe gelöst sind. Ein weiteres Kriterium hierzu ist die qualitative Veränderung der Zahnsubstanz. Die Matrix nimmt schrittweise eine leicht gelbliche Färbung an und wird mehr und mehr durchscheinend. Auch wird die Substanz nach und nach weicher und ist später knorplig flexibel. Die Abb. 15 a und b, unten, verdeutlichen diese gummielastische Eigenschaft. Die Demineralisation ist dann abgeschlossen, wenn nach Veraschen im Tiegel weniger als 0,1 % Rückstand bleibt.

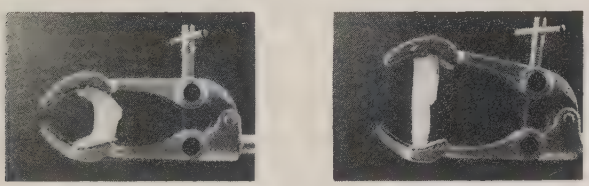


Abb. 15: Entmineralisierter Rinderzahn. Elastizität.
a. Belastung in Schraubzwinge
b. Rückkehr in den Urzustand nach Entlastung.

Für die weiteren Versuche gilt nun eine Hauptforderung:
Ist der Zahn gegen äußere Einflüsse verhältnismäßig unempfindlich, so ist die nackte, von Mineralstoffen entblößte, organische Zahnsubstanz gegen diese sehr anfällig. Verunreinigung mit ubiquitären Keimen führt zum Absetzen von Keimkulturen auf der Matrix, was sie für weitere Versuche unbrauchbar macht. Daher wurde, zumindest ab Versuch 10, unter möglichst sterilen Kautelen gearbeitet.

Eine Untersuchung der Keimkolonien ergab starke Hyphenbildung und Kollagenverflüssigung durch eine Penicillium-Form.

Ist das Gewebe entmineralisiert, wird es mit Aquadest etwa 24 Stunden gewaschen, bis es mit Farbindikator neutral reagiert. Dann wird die Quellung eingeleitet.

c. Quellung:

1. Mechanismus:

Man kann das makromolekulare Gefüge der Zahnmatrix vergleichen mit einem polymerisierten Kunststoffblock. Die Molekülfäden hängen untereinander zusammen und bilden so ein lockeres Raumnetz. Die einzelnen Fadenmoleküle des Kollagens sind über Querverbindungen untereinander vernetzt. Will man dieses Raumnetz in Fadenmoleküle auflösen, muß man die Querverbindungen zwischen ihnen vorsichtig lösen, die Hauptvalenzen im Faden selbst aber unverändert lassen.

2. Quellungsmittel:

Als Quellmittel dienen Laugen, Säuren, bestimmte Salze wie LISCN oder Harnstoff. In dieser Arbeit kamen die Hydroxyde verschiedener Alkalimetalle zur Anwendung.

Die Versuche 2 und 3 ergaben, wie die Zusammenfassung in Tabelle 2 auf Seite 41 zeigt, optimale Ergebnisse mit 2n NaOH.

Die entmineralisierte, gewaschene Zahnsubstanz wird in 2n NaOH bei etwa 15° C gegeben und gequollen.

3. Quellzeit:

Die Länge der Quellzeit ist besonders wichtig für die Qualität des Sols. Ist das Gel nicht genügend gequollen, enthält das daraus dargestellte Sol noch zu viele Reste des Matrixgewebes mit gröberen Strukturen. Ist das Gel zu stark gequollen, so sind die Bausteine in zu kleine Bruchstücke zerlegt worden, was sich schon an der geringeren Viskosität des Sols bemerkbar macht. Aber auch später bei der Restrukturierung wird dies offenbar und anschaulich in der Kurve der Wachstumsgeschwindigkeit, Abb. 24 Seite 71.

Tabelle von Versuch 2

H_3PO_2-demineralisierte Rinderdentinmatrix. 0^h-Versuchsbeginn bei Raumtemperatur.

2n NaOH	18^h = Transparent, starke Quellung, beginnende Deformierung. 21^h = Klar, Form zerfließend. 47^h = Schlierige Auflösung. 53^h = Zur Dialyse. 66^h = /./
1n NaOH	18^h = Leicht opak u. gequollen. 21^h = Transparent, starke Quellung. 47^h = Klar, Form zerfließend. 53^h = Schlierige Auflösung. 66^h = Zur Dialyse.
1/2n NaOH	18^h = Keine deutl. Veränderg. 21^h = Leicht opak u. gequollen. 47^h = Deutliche Quellung. 53^h = Opak u. Quell. zunehm. 66^h = Starke Quellung, transpar.
1/4n 1/8n 1/16n NaOH	18^h = Keine deutl. Veränderung. 21^h = Keine deutlichen 47^h = Unterschiede; et- 53^h = was zunehmende 66^h = Opazität.

Ermittlung des Konzentrationsoptimums von Natronlauge zur Matrixquellung.

Zusammenfassung der Tabelle:

KONZENTRATION n NaOH	ZEIT in Stunden
2n	20^h
1n	45^h
1/2n etc.	70^h u. mehr

(Kontrolle in Versuch 3 (+))

Als Größenordnung für die Quellzeit gilt bei Raumtemperatur etwa folgender Richtsatz:

1n NaOH -- 48 STDN
2n NaOH -- 24 STDN.

In einigen Versuchen wurde auch der Einfluß verschieden vorbehandelter Matrixsubstanzen auf die Quellzeit geprüft, wie später beschrieben wird.

Einerseits wurde demineralisiertes Gewebe als Zahn in einem Stück gequollen. Wie auch die photographischen Aufnahmen und die Beobachtungen in der Tabelle zu Versuch 2, Seite 41, erkennen lassen, kann man hierbei die Quellungsphasen gut verfolgen. Der Zahn wird transparent und nimmt später an Volumen merklich zu. Bei optimaler Quellung ist die Matrix klar, die Form zerfließt, Abb. 14, Seite 36. Anderseits wurde die Zahnsubstanz vor der Quellung mit einem Schlagmesserrührer zerkleinert. Dies sollte einerseits durch bessere Verteilung des zu quellenden Stoffes im Quellungsmedium eine schnellere und gleichmäßigere Reaktion ermöglichen, anderseits sollte in der gesamten Charge das Auftreten verschiedener Quellungsstadien nebeneinander vermieden werden. Verschiedene Stadien kommen dadurch zustande, daß bei der Quellung eines ganzen Zahnes die äußeren Anteile stärker gequollen sind, während sich im Inneren des Zahnes die Reaktion noch in einem frühen Stadium befindet, Abb. 14, Seite 36.

Bei der Quellung granulierter Substanzen entsteht wohl ein mehr homogenes Sol, aber die Quellzeit wird verlängert. Außerdem hängt die Quellung von Art und Konzentration des Demineralisationsmediums ab, s. Tabelle zu Versuch 11, Seite 43.

Ein weiterer Faktor bei der Quellungsdauer ist der Einfluß von kollagenabbauenden Fermenten, die während der Quellung wirksam werden könnten. Um derartige Reaktionen auszuschalten, wurde im Endversuch die Quellung bei erniedrigter Temperatur durchgeführt. Dieser Versuch Nr. 27 ging somit aus den Versuchen bis Nr. 45 hervor und ist unter bisher optimalen Bedingungen durchgeführt. Er dient gleichzeitig dazu, die optimale Quellungsphase, deren Trockensubstanzgehalt in Prozent, den optimalen Quotienten der Symplexpartner und die Ionenart sowie deren Konzentration zu ermitteln oder zu bestätigen. Genauere Angaben über die einzelnen

DEMINERALISIERTE DENTINMATRIX

Mit H_3PO_2	Mit C-Sre	Mit H_3PO_2	Mit C-Sre.
granuliert		als Zahn	
31^h	78^h	15^h	73^h

Die Zeiten geben nicht das Stadium des Quellungsendpunktes wieder; teilweise lösen sich die Gele schon kolloid.

Tab. Versuch 11: Quellzeiten verschieden vorbereiteter Dentinmatrices vom Kalb. C-Sre = Citronensäure.

Schritte enthält die Beschreibung dieses Versuchs. Vorerst soll der generelle Ablauf der Versuche beschrieben werden:

Die zur Quellung vorbereitete Zahnmatrix wird entweder direkt in etwa das fünffache Volumen 2n NaOH gegeben oder die Substanz wird sogleich in einen Dialyseschlauch gefüllt, welcher nun erst in die Lauge gehängt wird. Hierbei entfällt eine genaue Dosierung der Laugenmenge. Außerdem wird vermieden, daß die Substanz durch einen Überschuß an Lauge eine unerwünschte Verdünnung erfährt. Der Nachteil bei dieser Anordnung ist, daß kontinuierliches Rühren schwierig ist, was jedoch gerade für einen gleichmäßigen Quellungsverlauf erforderlich ist. Schließlich wurden beide Methoden kombiniert, vgl. Versuch 27.

Das kontinuierliche Rühren der quellenden Substanz ergibt auch einige Schwierigkeiten. Die Bewegung auf dem Schwingtisch ist unzureichend, da schon nach kurzer Quellung die Substanz sich löst, stark viskos wird und den Schwingbewegungen nicht mehr folgt. Aus gleichen Gründen konnte ein Magnetrührer nicht angewendet werden. Geeignet war direktes Rühren mit einem durch einen Elektromotor betriebenen Glasrührstab.

Nach einer Quellzeit von

Temperatur	Zeit	Material-körnung
20° C	15 h	Zahn
20° C	30 h	Granula
15° C	250 h	Granula

wird die Dialyse angesetzt.

d. Dialyse

Das entstandene Sol wird in einen Viskoseschlauch gefüllt, um es anschließend in destilliertem Wasser bis zum Neutralpunkt zu dialysieren. Hierzu eignet sich der schräge Zylinder, Abb. 16, unten.

Ein Glaszylinder erhält auf einem Stativ eine Neigung von 40°. Er wird mit dest. Wasser gefüllt und der Dialyseschlauch mit dem Sol eingehängt. Der Schlauch sollte wegen der einsetzenden osmotischen Wasseraufnahme nur zu zwei Dritteln gefüllt sein. An der Schrägwand sinkt dann das laugenangereicherte Wasser ab und sammelt sich am Gefäßboden. Bei der Dialyse empfiehlt es sich zu kühlen, da im neutralen Bereich Autolyse leichter einen Abbau bewirken kann. Man wechselt das Wasser für schnelles Auswaschen der Lauge.

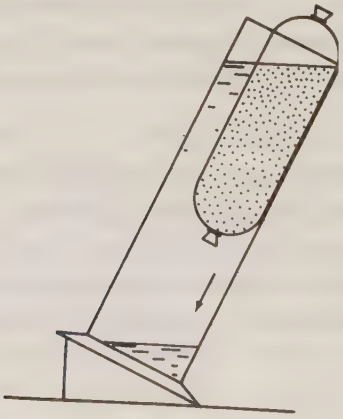


Abb. 16: Schrägzylinder zur Dialyse, nach THIELE, H.

Effektvoller wirkt die Dialyse unter einem ständigen Strom destillierten Wassers; die Dialysezeit wird dadurch erheblich verkürzt, der Wasserverbrauch aber erheblich gesteigert. Die Dialysemembran muß so beschaffen sein, daß wohl Ionen von der Größe des Na^+ und OH^- hindurchdiffundieren können, Makromoleküle jedoch zurückgehalten werden. Gleichzeitig werden bei der Dialyse auch Abbauprodukte und Fadenmolekülbruchstücke ausgewaschen. Hierzu eignet sich der Schlauch aus Viscose, regenerierter Celloulose. Zweckmäßig bindet man den zu zwei Dritteln gefüllten Dialyseschlauch am obersten Ende zu. Während der Reaktion wird vom Sol kolloidosmotisch Wasser aufgenommen. Der osmotische und kolloidosmotische Druck ist stark und bringt ganz gefüllte Schläuche zum Platzen. Auch sollte die Substanz vor und nach der Quellung, wie vor und nach der Dialyse, gewogen werden, um quantitativ die Wasseraufnahme zu verfolgen.

III. Das Sol

War die Quellung optimal und die Dialyse entsprechend, so liegt nun ein Sol vor, das glasklar, hochviskos, wenig spinnbar, farblos, von fadem Geschmack ist und den eigentümlichen Geruch lebenden Gewebes hat. Etwaige vorherige Gelbfärbungen sind verschwunden, da sie von Abbauprodukten herrührten, die durch die Dialysemembran abdiffundiert sind. Wie aus der elektronenoptischen Aufnahme von MAHL, H., Seite 46, hervorgeht, enthält das Sol die Bausteine der Dentinmatrix, Kollagenfadenmoleküle, und deren Vereinigung zu Helices in Größenordnungen um 30 Å in getrocknetem Zustand, aber keine Querstreifungen und Dentinfasern als Tertiärstruktur, abhängig vom Quellungsgrad. Verunreinigungen durch Schmelzmatrix sind nicht vorhanden. Sie können einmal als Trübung in der dekantierten Demineralisationsflüssigkeit nachgewiesen werden, anderseits ersieht man aus einem Gefrierschnitt nach der Entmineralisierung, daß nur Dentinmatrix bis zur Schmelz-Dentin-Grenze (SDG) residuiert.

a. Trockensubstanz:

Vom Sol wird im aliquoten Teil die Trockensubstanz bestimmt, woraus auf den Grad der Quellung geschlossen wird.

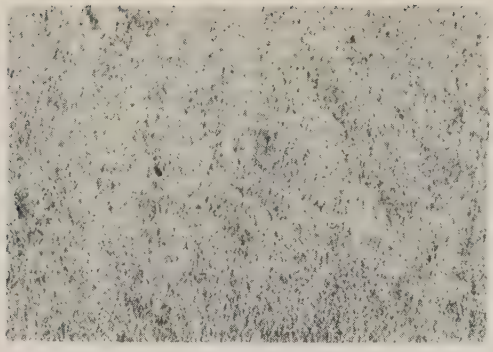


Abb. 17: Elektronenoptisch, Pseudoabdruck, Kollagen-Chondroitinsulfat-Sympl., Ausstrichpräparat, PtC-bedampft, Vergr. 200 000 : 1, nach Dr. H. MAHL, Firma CARL ZEISS

Drei Wägegläschen mit Schliffdeckel wurden 1 STD bei 100° C im Umlufttrockenschrank gehalten, 1/2 STD bei Raumtemperatur im Vakuumexsikkator. Das Leergewicht wurde mit einer Analysenwaage ermittelt. Die Gläschen wurden mit etwa 1 g Substanz gefüllt und das Vollgewicht genau bestimmt. Eingedampft wurde 1 STD bei 100° C im Umlufttrockenschrank, zum Abkühlen 1/2 STD im Vakuumexsikkator gehalten, die Trockensubstanz gewogen und der Prozentgehalt errechnet.

Die eingetrocknete Substanz ist klar und farblos, Abb. 18, Seite 47. Das aus der Dentinmatrix durch Quellung und Dialyse gewonnene Sol verändert sich leicht unter bakteriellen, enzymatischen und Temperatureinflüssen. Schon bei längerer Aufbewahrung im geschlossenen Gefäß bei + 7° C ist das Sol nach wenigen Tagen verändert. Es kann durch bakterielle oder autolytische Prozesse schlierig oder leichtfließend-dünn werden. Es kann spontan in den Zustand eines, allerdings ungeordneten Gels übergehen. Es kann Wasser abgeben oder aufnehmen. Noch andere Faktoren haben Einfluß, welche nicht ohne weiteres zu erfassen sind. Daher sollte das Sol nicht zu lange, stets aber kühl und steril aufbewahrt werden.

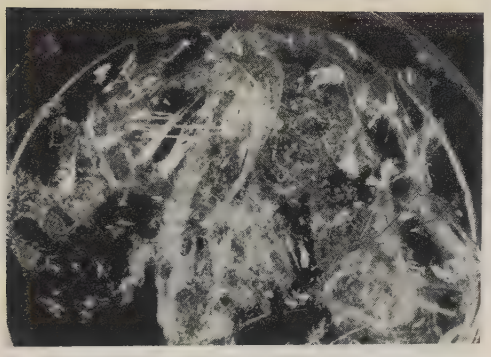


Abb. 18: Nach vollständiger Quellung der demineralisierten Dentinmatrix getrocknetes Gel. Trockensubstanz nach Bestimmung des Feststoffgehaltes. Die Substanz ist glasklar und farblos.

Dieses Kollagensol wurde zur Restrukturierung verwendet. Bewußt ist ein Schritt ausgelassen - die Abstimmung des Symplexes - vergleiche Kapitel B, I, e, 4. Wie im Endversuch gezeigt wird, muß Mucopolysaccharid als Symplexpartner vor der Restrukturierung dem Kollagensol zugegeben werden.

IV. Ionotrope Restrukturierung

In dieses Sol läßt man aus einer Elektrolytlösung Ionen eindiffundieren. Diese ordnen es zu einem Gel, welches Kapillaren aufweisen kann.

a. Herkömmliche Ionenarten:

Zunächst sind solche Ionen zu finden, die sowohl ordnen als auch Kapillaren vom passenden Durchmesser bilden. Außerdem sollten die Ionen physiologisch sein, dh. im Körpermilieu vorkommen. Verschiedene Ionen wurden auf ihre Fähigkeit zur ionotropen Ausrichtung untersucht (siehe 1., Seite 48, und Tabelle zu Versuch 10a, Seite 48.)

1. Alginat

Die in Vorversuchen ausgeführte Orientierung von Alginat mit den Ionen Cu^{++}, Cd^{++}, Ca^{++}, Pb^{++} zeigen gute Ergebnisse.

2. Kollagen

Versuche zur Bildung von Strukturgelen aus Zahnkollagensol mit diesen Ionen waren negativ. Der daraufhin mit einem Teil eines 1 %igen Alginatsols angesetzte Versuch ergab folgendes Bild, wie auch das Schema von Versuch 10a zeigt.

Tabelle zu Versuch 10 a

KOLLAGEN + ALGINAT (1%ig) 10 : 1

Tropfversuch mit Zentripetalwachstum

Konz.	Elektrolytion.	Doppelbr.	Sphäritgröße	Sphäritkern
pH 3	Cu-Acetat	+++	groß	trübe
1n	Zn-Acetat	++	klein	-
1n	$Ca(NO_3)_2$	+	mittel	-
2n	HNO_3	+++	mittel	-
2n	HCl	+++	klein	-
1n	$AlCl_3$	+++	groß	trübe
pH 5	$CdBr_2$	+++	mittel	-

Orientierung eines Kollagen-Alginat-Symplexes mit verschiedenen Ionen.

3. Symplexe

- Kollagen-Alginat -

Der Versuch wurde ausgeführt durch Eintropfen des Sols in die Elektrolytlösung, so daß Zentripetalwachstum perlartige Strukturgele lieferte. Mit Cu-Acetat

vom pH 3 trat bald starke Doppelbrechung auf als Zeichen für geordnete Anlagerung von Fadenmolekülen. Der Kern der bei dem Tropfversuch entstandenen Kugel war trübe. In 2n HCl war die Doppelbrechung und Opaleszenz ebenfalls stark. In 1n $AlCl_3$-Lösung war neben starker Doppelbrechung und Opaleszenz ein großer, trüber Kern zu beobachten. $CdBr_2$ von pH 5 ergab gleiche Erscheinungen mit einem mittelgroßen, trüben Kern. In $Ca(NO_3)_2$ ließ nur schwache Doppelbrechung erkennen, wobei die Tropfen nur leicht schrumpften. In 1n Zn-Acetat war gute Doppelbrechung und Opaleszenz zu verzeichnen. Die Tropfen waren wiederum klein. 2n HNO_3 ergab starke Doppelbrechung mit mittelgroßen Tropfen.

- Kollagen-Hyaluronsäure -

Ein zweiter Teil dieses Versuchs, 10 b, sollte zeigen, ob ein geringer Zusatz von Hyaluronsäure als Mucopolysaccharid den gleichen Effekt auf Kollagen hat, wie er sich bei Alginatzusatz zeigte.

Tabelle zu Versuch 10 b

KOLLAGEN + HYALURONSÄURE ALS MPS IN SPUREN
Tropfversuche mit Zentripetalwachstum

Konz.	Elektrolytion	Verhalten des Symplexes
pH 3	Cu-Acetat	Haltbares Gel, gute Eigenschaften
1n	Zn-Acetat	Auflösung nach anfängl. Strukturierung
1n	$Ca(NO_3)_2$	Auflösung nach anfängl. Strukturierung
2n	HNO_3	Auflsg. nach anfängl. guter Strukturierung
2n	HCl	Sofort fädige Auflösung
1n	$AlCl_3$	Auflösung nach anfängl. Strukturierung
pH 5	$CdBr_2$	Haltbares Gel, gute Eigenschaften
pH 4	Al-Acetat	Anfängl. spärliche, später gute Strukturierung
pH 6	Ca-Acetat	Sofort fädige Auflösung
1n	CH_3COOH	Sofort fädige Auflösung

Orientierung eines Kollagen-Mucopolysaccharid-Symplexes mit verschiedenen Ionen.

Mit Cu-Acetat und $CdBr_2$ ergaben sich gute Eigenschaften. Bei HCl wurden die Tropfen sofort fädig aufgelöst. Mit $AlCl_3$, $Ca(NO_3)_2$, Zn-Acetat, HNO_3, Cd- und Ca-Acetat wurde nach anfänglich guter Strukturierung später Auflösung beobachtet. Al-Acetat zeigte anfänglich geringe Doppelbrechung, die später zunahm und dann unter Auflösung des Tropfens verschwand. In 1n CH_3COOH mischte sich das Sol ohne Gelbildung.
Zur Kontrolle dargestellte Flächengele ergaben das gleiche, so daß die Ergebnisse nicht durch besondere Versuchsanordnungen zustande gekommen waren. Aus den Versuchen mit Kollagen allein, mit Kollagen plus Alginat oder plus Hyaluronsäure zeigt sich, daß eine gute ionotrope Ordnung nur mit Kollagen als Polyionen und einem Partner möglich ist, d.h. nur im Symplex (siehe B, I, e, 5).

- Kollagen-Chondroitinsulfat -

Nach den Angaben (Kapitel B, II a, 3 und 4) ist Chondroitinsulfat in geringen Mengen im Zahn festgestellt worden. Die Bedeutung der Mucopolysaccharide (MPS) läßt sich daran erkennen, daß während der Zahngenese die Regionen aktiver Zellarbeit besonders reich an diesem Stoff sind. Seine Wirkung als Symplexpartner ist gut. Die Abbildung 19 zeigt die stereochemische Struktur.

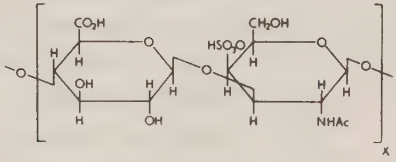


Abb. 19: Struktur einer Disaccharideinheit der Chondroitinsulphosre.-A

4. Symplexoptimum:

Nun war der optimale Quotient, Chondroitin zu Kollagen zu ermitteln. Die Schwierigkeiten, Zahlenwerte hierfür anzugeben, waren beträchtlich, da Kollagen als Hauptbestandteil der "lebenden Substanz" sehr empfindlich reagiert.

Eine gleichbleibende Menge einer 0,3 %igen Chondroitinsulfatlösung wurde jeweils zu fallenden Mengen Kollagensol gegeben. Diese Mischung wurde homogen gerührt und zentrifugiert und dann in CdJ_2, $Cd(NO_3)_2$ oder Cu-Acetat als Gegenionenlösung eingetropft. Der Ausgang des Versuchs war nicht befriedigend. Wohl war eine ionotrope Gelbildung eingetreten, Kapillaren waren jedoch nicht entstanden. Der Versuch wurde fortgeführt, indem in die Zentrifugenröhrchen nun zuerst eine bestimmte Menge Chondroitinsulfat in Trockensubstanz eingewogen wurde. Diese Methode ist exakter, einmal wegen der besseren Dosierung, anderseits weil das Sol nicht durch das Lösungswasser des CHS verdünnt wird, worauf dann eine genaue Menge Kollagensol zugefügt wurde. Bei einer Mucopolysaccharidkonzentration von 2,0 s% (s% = Sol%) CHS (CHS = Chondroitinsulfat) bildeten sich Kapillaren.

5. Quellungsphasen:

Da sich aus diesen Versuchen die Vermutung ergab, daß verschiedene Quellzeiten unterschiedliche Solarten ergeben, wurden im Versuch 17 drei verschieden lange gequollene Sole untersucht; sie gingen aus folgendem Versuchsablauf hervor:

Bereitung von Granula aus demineralisierter Dentinmatrix, danach Quellung in 2n NaOH während:

I. = 15^h
II. = 20^h
III. = 25^h bei 20° C, folgend Dialyse und

Bestimmung der Trockensubstanz (TRS)

	I (15^h)	II (20^h)	III (25^h)
TRS	0,98 %	0,55 %	0,69 %

Mit diesen genauer definierten Solen wurde der Einfluß verschiedener Quellungsstadien bei verschiedenen Symplexpartnern und verschiedenen Gegenionen untersucht. Die Konzentration des CHS war wohl genau dosiert, nicht aber abgestimmt. Die Tabelle von Versuch 17 zeigt den erzielten Effekt.

Tabelle zu Versuch 17

Strukturierung dreier verschieden gequollener und verschieden konzentrierter Sole mit unterschiedlichen Gegenionen und unterschiedlichen Symplexpartnern.

		I	II	III
	KA	++	+++	+++
	KO	+++	++	++
B1a	DB	++++	++++	+++
	FS	grob	fein	homog.
	TS	++++	+++	++
	KA	(+)	(+)	+
	KO	+	+	++
B1b	DB	+++	++	+++
	FS	grob	fein	homog.
	TS	++	-	-
	KA	-	-	-
	KO	++	+	+
B2a	DB	++	++	++
	FS	fein, gut	feiner, gut	fein
	TS	-	-	-
	KA	-	(+)	-
	KO	+	+	-
B2b	DB	+++	++	-
	FS	fein	norm.	-
	TS	+	+	+
	KA	++	+	+
	KO	+	(+)	++
B3a	DB	++	(+)	+
	FS	homog.	homog.	homog.
	TS	+	+	+
	KA	-	(-)	-
	KO	++	+	(+)
B3b	DB	+	(+)	(+)
	FS	homog.	homog.	homog.
	TS	-	-	-

I, II, III Solarten
A. ohne Polysaccharid (-)
B. mit Polysaccharid
a. in $Cu(NO_3)_2$
b. in $Cd(NO_3)_2$
1. mit Alginat
2. mit Hyaluronsre.
3. mit Chondroitin-Schwefelsre.

KA - Kapillarität
KO - Konsistenz
DB - Doppelbrechung
FS - Faserstruktur
TS - Tagentialstruktur

Zusammenfassend ist festzustellen:

Zur Bildung eines kapillären Strukturgels eignet sich Cu-Nitrat besser als Cd-Nitrat, eine höhere Solkonzentration eher als eine niedere, ein optimal gequollenes Sol besser als ein zu weit gequollenes. Als Symplexpartner ist Hyaluronsäure ungünstiger als Chondroitinsulfat und beide ungünstiger als Alginat. Alginat als Polyuronid sollte hinter Chondroitinsulfat (CHS) stehen, da es pflanzlicher Herkunft ist. Von den beiden tierischen Polysacchariden ist CHS geeigneter als Hyaluronsäure, obwohl letztere eine faserige Matrix liefert. Zur Bestätigung wurde ein Versuch mit einem 0,7 %igen Sol und variierten Konzentrationen CHS angesetzt. Im Verlauf dieses Versuches erschien dann als möglicher Hinderungsgrund zur Kapillarbildung das zu enge Gefäß, in dem das Wachstum durchgeführt wurde. Küvetten von 4 mm Ø und 7 mm Höhe fanden Verwendung, um Flächengele herzustellen, da solche sich besser untersuchen lassen. Bei näherer Überlegung erschienen diese zu klein, da sie dem Gel nicht erlaubten, das Hydratationswasser abzugeben, welches während der Ionotropie frei wird und im Abfließen die Kapillaren prägt. Um diesen Fehler zu kompensieren, fanden nach positiven Vorversuchen nur noch Küvetten von 12 mm Ø und 7 mm Höhe Verwendung. Küvetten mit planem Glasboden sind vorteilhaft, da sie eine Betrachtung unter dem Mikroskop gestatten, ohne das Gel, welches teilweise sehr empfindlich ist, aus der Schale nehmen zu müssen.

Versuch 19 mit einem 0,99 %igen Sol ergab ein Optimum der Kapillarbildung bei 1,2 s% CHS. Gele mit einem Mucopolysaccharidanteil von mehr als 2,5 s% zerflossen bröcklig, Abb. 20, Seite 54. Die Gläser mit den Proben 1, 6 und 11 sind auf dem Bild nicht dargestellt, da der Inhalt der Röhrchen zerflossen ist.

Außerdem wurde hier eine weitere Feststellung gemacht, die für die Versuchsanordnung wichtig erscheint: Ist das in die Küvette gefüllte Sol so viskos, daß es schwer fließt, so ist sie gefüllt in eine Wanne mit Elektrolyt zu versenken. Ist das Sol jedoch niederviskos, so wird bei einer solchen Manipulation das Sol vom einschießenden Elektrolyten ausgespült oder es kommt zur Bildung von Schlieren, Schichten und Wirbeln, die so fixiert werden und dann das Bild stören. In Vorversuchen wurden daher verschiedene Techniken zur Verbesserung der Methode erprobt, das Sol mit

Abb. 20: Versuchsreihe von Versuch 27 (Beschreibung im Text). Die abgestufte Trübung und Größe des Reagenzglasinhalts zeigt die Abhängigkeit von der Konzentration der H^+-Ionen und des Symplexpartners, CHS, an.

Milchsäurekonzentration	CHS-Konz. 0,00s%	0,20s%	0,40s%	0,60s%	0,80s%
0,1n	1 Keine Ionotropie	2	3	4	5
0,3n	6 Keine Ionotropie	7	8	9	10
0,5n	11 Keine Ionotropie	12	13	14	15

dem Elektrolyten in Kontakt zu bringen. Aufsprühen des Elektrolyten auf das Sol empfiehlt sich nicht, da jedes Tröpfchen eine Primärmembran induziert. Die Oberfläche des Gels glich dann dem Bild von Hauterkrankungen. Versuche mit oberflächenentspannenden Mitteln im Elektrolyt hatten keinen nennenswerten Erfolg, wie auch das Aufbringen von Aquadest vor einer Benetzung mit Elektrolytlösung.

Hauptsächlich wurden bei diesen Versuchen Unterschiede an der Primärmembran festgestellt. Die Technik der Wahl stellt das Abdecken der gefüllten Küvetten mit einem vorher mit der Elektrolytlösung getränkten Filterpapier vor dem Eintauchen in den

Elektrolyt dar. Bei weiteren Versuchen zeigte sich dann noch die Bedeutung der Porosität des Filters für das Gelwachstum (Versuch 38).

Der Versuch 20, der mit einem 0,99 %igen Sol aus $11/IV_1$ angesetzt war, ergab die erste brauchbare Reihe eines Kollagensymplexes mit fallendem CHS-Anteil. Bei 0,1 s% CHS ergaben sich bei guter Konsistenz und Doppelbrechung Kapillaren von 100 - 500 µ Durchmesser, gewundener Längsstruktur und einem Anstieg von 200 auf 1000 µ. Im Querschnitt erschienen die Kapillaren regelmäßig verteilt. Die Regelmäßigkeit in Durchmesser und Anordnung nahm bei einer Konzentration von 0,2 s% zu. Der Durchmesser betrug dann 100 - 250 µ. Der Längsverlauf war weniger gewunden, die Festigkeit des Gels nahm ab.
Bei 0,3 s% fanden sich in einem Gel mit Kapillaren von einem Durchmesser von 250 µ begrenzte Areale von kleineren Kapillaren mit 50 µ Durchmesser. Der Längsverlauf war gewunden. Die Entstehungsursache der Areale konnte nicht ermittelt werden. 0,5 s% CHS zeigten kein gleichmäßiges Bild. Bei 1,0 s% waren nur einzelne Kapillaren von 150 µ Ø zu erkennen, die Festigkeit war weiter vermindert. Zusammenfassend ergibt sich, daß bei einem Sol von 0,99 % Kollagen eine CHS-Konzentration von etwa 0,1 - 0,2 s% optimal auf die Kapillarbildung wirkt bei guter Gelkonsistenz. Die Konzentration des CHS ist in den Angaben in % auf die Solmenge, nicht auf den Gehalt des Sols an Kollagen als Trockensubstanz bezogen. Umgerechnet ergäben 0,1 s% bei dem Sol von Versuch $11/IV_1$ mit 0,99 % Trockensubstanz 10,06 % CHS-Feststoffanteil.

Weitere Versuche im Gebiet des CHS-Optimums bestätigten die Ergebnisse, es ergaben sich jedoch neue Nebeneffekte. Die Kapillaren waren großenteils in Medusenhäuptern angeordnet. Auch waren Kapillaraufzweigungen zu beobachten, Abb. 21, Seite 56. In der Mitte der Medusenhäupter fanden sich kleinste Kapillaren von geradem Verlauf. Dieser Effekt hat bisher noch keine Ursache erkennen lassen; eine Ähnlichkeit zu dem Effekt der arealweisen Kapillarität bietet sich an. Die Gelkonsinstenz oder Festigkeit war innerhalb dieser Versuchsreihe durch die CHS-Anteile nicht merklich verändert, wohl aber stieg die Fließfähigkeit und Spinnbarkeit des Soles, aus dem das Gel hervorgegangen war, mit der CHS-Konzentration an. Auch

hier besteht wieder ein deutlicher Unterschied zwischen einem frischen und einem abgebauten Chondroitinsulfat. Gele mit abgebautem CHS als Symplexpartner nehmen in ihrer Konsistenz bei steigender CHS-Konz. merklich ab.

Abb. 21: Kapillaraufzweigung im Strukturgel. Kollagen-Chondroitinsulfat-Symplex 1400 : 1.

In den folgenden Versuchen kam das Sol 11/IV$_2$ mit 1,10 % Feststoff und höherer Viskosität zur Anwendung. Bei diesem Sol entspricht 0,1 s% CHS einem Feststoffanteil von 9,0 %. Bedecken mit Filterpapier vor der Strukturierung war wegen der höheren Viskosität nicht mehr erforderlich. Da in den folgenden Versuchen nur die Quantität, nicht der Durchmesser der Kapillaren berücksichtigt wurde, zeigte sich auch noch nicht die Bedeutung der Veränderung der Andiffusionsgeschwindigkeit durch Filterscheiben für das Gelwachstum. Im Versuch zeigte sich, daß das Chondroitinsulfat mit dem Sol von 1,1 % bei der in den voraufgegangenen Versuchen 19 - 21 ermittelten Optimalkonzentration von 0,1 - 0,2 s% keine deutliche Kapillarbildung zeigte. Ausschließlich bei 0,2 s% traten einzelne randständige Kapillaren auf. Der daraufhin angesetzte Versuch mit frischem CHS ergab andere Werte: Die Kapillarbildung war mehr einzeln. Ein Konzentrationsoptimum von CHS konnte bei 0,20 s% einwandfrei ermittelt werden. Der Kapillardurchmesser betrug hier 50 - 100 μ.

Es ergab sich aus diesen Versuchen, daß CHS mit Molekülen geringer Kettenlänge einen schwächeren Effekt auf Wachstum und Kapillarbildung hat, als ein solches mit längeren Fadenmolekülen. Der Grund hierfür ist in der räumlichen Anordnung der Symplexpartner zueinander zu suchen.

Folgerung: Zunächst waren Gele mit höherer Kapillarzahl darzustellen. Die geringe Kapillarität konnte abhängen von
1. hoher Solkonzentration,
2. kurzer Quellzeit,
3. ungeeignetem Symplexquotienten.

Die Versuche teilen sich jeweils in drei Gruppen, von denen die erste CHS-Konzentrationen bis 0,8 s% in großen Schritten umfaßt. Die zweite Stufe umfaßt das Gebiet des Optimums in kleinen Schritten, die dritte - mit den gleichen kleinen Schritten - umfaßt ein größeres Gebiet als Kontrolle. Die Festigkeit des Gels nahm bei dem Sol $11/IV_1$ mit 0,99 % mit steigendem CHS-Gehalt laufend ab. Bei 0,5 s% zerfloß das Gel beim Liegenlassen, während das Festigkeitsmaximum um 0,05 s% lag.

Die Kapillaren waren bei 0,05 s% vereinzelt mit 100 - 500 $\mu\varnothing$, nahmen dann an Häufigkeit zu, bildeten Medusenhauptareale und erreichten schließlich eine gleichmäßige Verteilung. Ebenso wurde der Durchmesser gleichmäßiger und kleiner, wie auch der Längsverlauf weniger gewunden war. Während das Optimum der Kapillarität bei 0,50 s% angenommen werden muß, kann das absolute Optimum für ein Strukturgel mit Kapillaren höchstens für 0,25 s% angesetzt werden, da die Festigkeit mit berücksichtigt werden muß. Das Optimum für das gleiche Sol mit dem abgebauten CHS als Symplexpartner lag bei etwa 0,20 s%. Wäre dieses Optimum nicht aus Gelen mit mehr oder weniger vereinzelter Kapillarität hervorgegangen, so könnte man den Unterschied von 0,20 zu 0,25 s% für unwesentlich erklären. In diesem Falle sollte ein Vergleich jedoch vorsichtig angestellt werden.

Die Kettenlänge des CHS ist ein wichtiger Parameter, sie kann nicht durch Quantität ersetzt werden, da sonst der gleiche Effekt auf die Strukturierung mit höheren Konzentrationen des CHS mit kurzen Ketten erreicht würde. Versuch 24 bestätigte nochmals den erheblichen Einfluß des Sols auf die Kapillarbildung.

Hieraus ergab sich Versuch 25, in dem die Solqualität bei gleichbleibender CHS-Konzentration verändert wurde. Bei einer CHS-Konz. von 0,20 s% in einem 1,1 %igen Sol wurde schrittweise mit Wasser verdünnt. Eine augenfällige Veränderung in der Viskosität des Sols und Konsistenz wie Kapillarität des Gels wurde nicht beobachtet. Hieraus läßt sich schließen, daß weniger die Solkonzentration als eher das Quellungsstadium den Unterschied ergibt.

Für das Sol $11/IV_2$ mit 1,10 % wurde dann ein Versuch nach dem Muster von 24 angesetzt. Die Kapillarzahl nahm bei Schritten von 0,1 s% CHS auf den mm^2 von

5 Kapillaren bei 0,2 s%,
35 Kapillaren bei 0,4 s% und
90 Kapillaren bei 0,6 s%

zu, während der Durchmesser erst anstieg und später wieder abnahm. Die Kapillaren wurden gleichmäßiger. Die Konsistenz wurde durch den MPS-Zusatz wenig beeinflußt, zumal die Viskosität des Sols hoch war.

Tabelle zu Versuch 28

Ermittlung des CHS-Optimums zur Kapillarstrukturgelbildung von einem Sol ($11/IV_2$) mit 1,1 % Kollagen

CHS-Konz.	Kapillaren pro mm^2	Durchschn. Kapillardurchmesser
0,00 %	0	-
0,10 %	0	-
0,20 %	5	250 - 500 µ
0,30 %	15	200 - 500 µ
0,40 %	35	250 - 500 µ
0,50 %	50	250 - 600 µ
0,60 %	90	50 - 250 µ
0,70 %	150	55 - 350 µ
0,80 %	360	50 - 250 µ

Die Kapillaren werden in ihrer Anordnung und im Durchmesser gleichmäßiger; die Gelkonsistenz verändert sich nicht merklich.

In dem Symplex war die CHS-Komponente genau eingestellt worden. Die Kollagenkomponente war nur durch die beiden Größen Trockensubstanzgehalt und Quellzeit charakterisiert.
Die erhaltenen Daten zeigen mit guter Genauigkeit, daß ein Symplexpartner unbedingt erforderlich ist, daß er eine bestimmte Konzentration im Kollagensol haben muß und daß dieses Sol bestimmte Qualitäten besitzen muß. Unter diesen Bedingungen bildet sich ein Strukturgel mit Kapillaren im Ionenstrom. Zusammenfassung in Tabelle Versuch 11 auf Seite 43 .

b. Me-Ionen-Austausch:

Die in den Versuchen bisher hauptsächlich verwandten Cu^{++}- und Cd^{++}-Ionen sind medizinisch gesehen wenig adaequat, wenn solche Metallionen auch als Spurenelemente im Organismus vorkommen. Diese Ionen sind mit 1n HCl bis zu einem geringen, aber noch störenden Prozentsatz gegen H^{+}-Ionen austauschbar. Bei einem solchen Austausch in HCl wird der größte Teil der während der Ionotropie eingewanderten Metallionen durch H^{+}-Ionen ersetzt. Das Gel behält Festigkeit und Orientierung.

c. Physiologische Ionotropie:

Ausrichtung der Kollagenfibrillen durch H^{+}-Ionen ist möglich. Als geeignete Säuren kommen die im Organismus vorhandenen organischen Säuren in Betracht wie Milch- oder Citronensäure. Alle folgenden Versuche wurden mit H^{+}-Ionen angestellt, wie dies auch in ähnlicher Weise auf dem Gebiet der Restrukturierung der Haut angewandt wird (THIELE, H. u. SCHÜTT, W., unveröffentlicht). H^{+}-Ionen orientieren und vernetzen Makromoleküle simultan durch Querverbindungen über Wasserstoffbrücken. Ihre Funktion ist mit der der Me^{++}-Ionen vergleichbar.

1. Kapillaritätsoptimum:

Versuch 30 zur H-Ionotropie eines Symplexes (siehe Tabelle) von einem 1,1 %igen Kollagensol mit 0,8 s% CHS wurde mit 0,1 bis 1,0 n Milchsäure durchgeführt. Die Ergebnisse in bezug auf Kapillarendurchmesser und Gelkonsistenz waren gut.

Tabelle zu Versuch 30

H^+-Ionotropie

Milchsäure auf Kollagensymplex ($11/IV_2$)
Sol 1,1 %ig + 0,8 s% CHS.

Säure-konz.	Doppelbr. quer	Doppelbr. längs.	Kapillar-durchmesser	Kapillar-zahl/mm^2	Konsist.
1/10n	-	+++	25 - 200 µ	50	+++++
2/10n	-	+++	25 - 200 µ	60	++++(+)
4/10n	-	+++	50 - 150 µ	60	++++
6/10n	-	+++	200 - 300 µ	100	+++(+)
8/10n	-	+++	100 - 200 µ	120	+++
1n	-	+++	200 - 300 µ	100	++(+)

Wachstumsgeschwindigkeit, Kapillargröße und -zahl steigen mit der Konz. der Säure, die Gelkonsistenz fällt leicht.

Die Längsdoppelbrechung war deutlich. Eine Abhängigkeit von Kapillarität und Säurekonzentration konnte festgestellt werden. Weiterhin war das Gelwachstum mit dem Auge verfolgbar, eine Struktur von mikroskopischen Fäserchen war zu erkennen; Kapillarzahl und Durchmesser stiegen an. Die Abbildungen 6a - c, Seite 11, zeigen solche H^+-ionenstrukturierten Flächengele. Ein Nachteil bei hohen Säurekonzentrationen machte sich bei der Fortführung des Versuches bis zu 4n Säure bemerkbar, Versuch 32: Gele mit Milchsäure über 1n unterliegen nach dem Wachstum einer starken dreidimensionalen Schrumpfung, die allerdings eine Verdichtung des Gels ergibt, so daß es der natürlichen Matrix in seiner Dichte ähnlich wird. Das Mucopolysaccharidoptimum liegt bei 0,40 s% für ein 1,1 %iges Sol.

Mit Citronensäure war die Kapillarität nicht so ausgeprägt wie bei Milchsäure, Tab. von Versuch 37 auf Seite 61. Da sich in den Versuchen 30 bis 37 eine Abhängigkeit der Kapillarbildung auch von der Säurekonzentration bemerkbar gemacht hatte, wurde in den folgenden Versuchen zur Bestimmung der Symplexpartnerkonzentration diese in Abhängigkeit von der Säurekonz. ermittelt. Das Versuchsschema von 37 gleicht dem von 35, hier wurde die CHS-Konz. und die Säure-Konz. variiert.

Tabelle zu Versuch 37

H^+-Ionotropie

Vergleich von Milchsäure mit Citronensäure bei einem Kollagen-CHS-Symplex

Sol ($11/III_1$) 0,72 %ig + CHS var.

Milchsäurekonz.	0,10 %	0,15 %	0,20 %	0,25 %	0,30 %	0,40 %	Beschreibung
	-	600	500	250	200	bis 200	KD
0,1n	-	2	4	5	7	8	KZ
	transparent	Opazität und Konsistenz steigend					CH
	-	300	400	220	100	150	KD
0,2n	-	4	4	7	10	8	KZ
	s.o.	-- s.o. --					CH
	-	300	400	100	220	200	KD
0,4n	-	5	5	25	15	25	KZ
	s.o.	-- s.o. --				gleichmäßig	CH
Citr.-säurekonz.							
	-	550	700	450	300	200	KD
0,1n	-	1	2	6	3	3	KZ
	s.o.	-- s.o. --					CH
	-	600	600	350	220	300	KD
0,2n	-	3	4	5	7	5	KZ
	s.o.	-- s.o. --					CH
	-	500	300	500	250	250	KD
0,4n	-	4	5	3	6	8	KZ
	s.o.	-- s.o. --			gleichmäßig		CH

KD = Kapillardurchmesser in μ

KZ = Kapillarzahl pro 1 mm

CH = Charakteristika

Mit zunehmendem CHS-Gehalt, weniger, aber auch merklich, mit zunehmender Säurekonezntration, ergab sich steigende Opazität und Festigkeit des Gels. Bei höherer Säurekonzentration wurde stärkere Schrumpfung festgestellt. Das Optimum an Kapillarität (Zahl/Durchm.) lag bei Versuch 35 bei 1n Milchsäure mit dem Sol II/III_1 von 0,72 % Kollagengehalt, während die Symplexpartnerkonzentration 0,20 s% CHS hatte. Bei Versuch 37 lag das Optimum, wie auch die Tabelle auf Seite 61 zeigt, bei 0,4n Milchsäure bei 0,25 s% CHS, während es für Citronensäure bei 0,30 s% auftrat. Da sich immer wieder die besondere Bedeutung der ersten Berührung des Sols mit der Elektrolytlösung gezeigt hatte, wurden hierzu Versuche angestellt. Wurde ein Dialyseschlauch mit Sol gefüllt und in Elektrolyt getaucht, bildete sich ein Gel ohne Kapillaren. Die Diffusion der Ionen wurde durch die Membran zu sehr verlangsamt. Versuche mit anfänglich verdünntem Elektrolyt, der nach Versuchsbeginn konzentriert wurde, ergaben ungeordnete Kapillaren mit starker Schrumpfung des Gels.

2. Andiffusionsgeschwindigkeit

Änderung der Andiffusionsgeschwindigkeit durch verschieden dicke Filterlagen (Filter S&S 604) zeigt den Effekt auf die Ionotropie in folgender Tabelle:

Tabelle zu Versuch 39

Variierte Andiffusionsgeschw. von Elektrolyt (0,4n Milchsre.) auf einen Symplex.

CHS-Konz. in s%	Strukturgeleigenschaften bei 1 Lage	2 Lagen	3 Lagen	Merkmale	
	550 µ	700 µ	1400 µ	KD	größter
0,20	einzelne K.	einzelne K.	mehrere K.	KZ	Kapillar-
	/	undicht=Störung	/	CH	durchmesser
	--	1400 µ	1400 µ	KD	größte
0,30	--	mehrere K.	mehrere K.	KZ	Opales-
	granulär	gestört	/	CH	zenz
	große K.	220 µ	200 µ	KD	kleinster
0,40	einzelne K.	viele K.	viele K.	KZ	Kapillar-
	gestört	gleichmäßig	/	CH	durchmesser
	KZ-Minimum	/	KZ-Maximum		Gruppencha-
	--	. KD-Optimum .			rakteristik.

Abkürzungen siehe Tab. z. Vers. 37. K = Kapillaren KD in µ

Auf einen Glasring von 2,5 cm Ø und 0,7 cm Höhe, der auch für die Wachstumsküvetten Verwendung fand, werden eine, zwei, drei etc. Lagen eines Filterpapiers von höherer Durchlaufgeschwindigkeit als kreisförmige Plättchen gelegt, die den Glasreif um etwa 1 mm überragen. Dieser Saum wird umgelegt und mittels eines Gummiringes dicht an den Ring gepreßt. Die so entstandene Küvette mit Filterboden wird mit dem Sol gefüllt, zweckmäßig, nachdem der Filterboden mit Wasser oder Elektrolyt befeuchtet worden ist. Die Schale wird dann so in Elektrolyt gestellt, daß dieser nicht hineinlaufen kann. Diese Anordnung zeigt die Bedeutung der Andiffusionsgeschwindigkeit, liefert aber keine genauen Werte.

Weitere Versuche mit Filterpapier von schnellerer Durchlaufzeit ergaben bessere Werte. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, daß die MPS-Konzentration empfindlich auf diese Versuchsänderung reagiert.

Nach diesen Erfahrungen schien es sinnvoll, alle im Laufe der Experimente definierten Bedingungen anzuwenden, soweit sie in einem Versuch gemeinsam durchzuführen sind. Gleichzeitig ergibt sich aus einer solchen Darstellung eine Beschreibung zur Restrukturierung von frischgewonnenem Dentinkollagen.

d. Kontrollversuch

- Versuch 27 -

Restrukturieren von demineralisiertem und gelöstem Dentinkollagen.

Zähne von den Kiefern eines Rindes wurden von Konkrementen in situ gereinigt, aus dem Kiefer entfernt, in eine Mischung von Glycerin : Wasser = 1 : 1 gebracht und bei + 7° C aufbewahrt. Danach wurden die Zähne mit Wasser gespült und in ein 4 bis 5faches Volumen unterphosphoriger Säure, H_3PO_2, (25 %ig) zum Entmineralisieren gegeben. Jeweils nach 24 STDN wurde die Säure erneuert. Dies wurde 5mal wiederholt, bis die Zähne elastisch und transparent waren. Die Abb. 15 a und b, Seite 39 ,

zeigt einen demineralisierten Zahn in eine Klammer eingespannt. Das erste Bild zeigt ihn unter geringer Belastung, das zweite nach Entlasten. In diesem Zustand wurden die Zähne noch bis zum 13. Tag nach Versuchsbeginn in der Säure belassen. Sodann wurden sie mit destilliertem Wasser unter mehrmaligem Wechsel gewaschen und nach 24 STDN in einem Schlagkreuzrührer zu etwa 1 mm großen Granula zerkleinert. Nach nochmaligem Waschen wurden sie sodann mit dem 4fachen Volumen an 2n NaOH zusammengebracht und im thermokonstanten Wasserbad bei + 15° C gerührt. Nach etwa 24 STDN war eine leichte Quellung festzustellen. Nach weiteren drei Tagen waren lediglich noch schwache Reste der Matrixstruktur zu erkennen. Hierauf wurde die Matrix in Dialyseschläuche gefüllt und zur weiteren Quellung in 2n NaOH gehängt. Die Gesamtmenge wurde im laufenden Versuch nacheinander in vier Chargen abgeteilt. Diese vier Chargen sollten die Wirkung der unterschiedlichen Quellungszeit nachweisen. Charge I wurde 22 Tage nach Versuchsbeginn und nach einer Quellzeit von 197 STDN mit einem Glasstempel im Glaszylinder homogenisiert. Es blieben Strukturreste, die bei schräg einfallendem Licht mit dem bloßen Auge noch erkennbar waren. Die Charge wurde zur Dialyse gebracht. Nach weiteren 40 Stunden Dialysezeit, wie bei allen späteren Chargen, mit häufigem Wechsel des Waschwassers ergab ein pH-Test Neutralität der Lösung (pH 7). Das Sol hatte während der Dialyse an Volumen zugenommen, Tabelle zu Versuch 27 Teil 1. und 2., Seite 65. Mit den weiteren drei Chargen wurde ähnlich verfahren, s. Tabelle zu Versuch 27, Teil 1. Über die weitere Durchführung des Versuchs gibt der Versuchsplan Auskunft.

Versuchsplan:

Das demineralisierte, granulierte Dentin wird solange in 2n NaOH gequollen, bis nur noch geringfügige Strukturreste zu erkennen sind. Dies geschieht unter Rühren im Wasserbad bei + 15° C. Sodann wird die Dentinmatrix in Dialyseschläuche gegeben und dem weiteren Einfluß von NaOH ausgesetzt, bis keine Strukturreste mehr erkennbar sind. Zu diesem Zeitpunkt wird die erste Probe entnommen. Sie muß mindestens 70 g Substanz enthalten, um die mengenmäßige Durchführung des Versuchs zu gewährleisten. Hieran schließt sich die Dialyse im Membranschlauch bis zur neutralen Reaktion mit Farbindikator.

Tabelle von Versuch 27

Teil 1 = SOLDARSTELLUNG

RINDERZÄHNE

Zeitabschnitte in Stunden		Gesamtzeiten in Stunden	Dialyse-zeit
0	Demineralisation 25 %ige H_3PO_2		
24	H_3PO_2-Austausch.		
24	H_3PO_2-Austausch		
24	H_3PO_2-Austausch		
216	Mehrm. Austausch.		
	Wasserwäsche, Granulation	---280	
30	Offene Quellung 2n NaOH, 15° C	---310	
22	Zunehmende Transparenz.		
72	Strukturreste.		
48	Geschl. Quellung i. Dialyseschlauch 2n NaOH, 15° C		
55		507 -> 1. Charge	40 h
24		531 -> 2. Charge	40 h (weiter ->
24		555 -> 3. Charge	40 h in
24		579 -> 4. Charge	40 h T. 2)

Tabelle zu Versuch 27

Teil 2 = SOLCHARAKTERISIERUNG

Charge	Quell-zeit.	pH	Chargengewicht vor Quellg.	nach	= Diff.	Rest-strukt.	Visko-sität	Trocken-substanz
I	197	7	70 g	100 g	30 g	+++	+++	1,895 %
II	221	7	68 g	93 g	25 g	++	++++	2,049 %
III	245	7	86 g	112 g	26 g	+	++	1,912 %
IV	269	7	60 g	96 g	36 g	-		1,479 %

Ablaufschema zu Versuch 27

	I	II	III	IV
Chargenentnahme	0^h	24^h	48^h	72^h
Elektrolyt-lösung	Milch-säure	Citronen-säure		Rest (TRS u. Opt.)
CHS-Konz.	1 0,00s%	2 0,20s%	3 0,40s%	4 0,60 s% / 5 0,80 s%
Elektro-lytkonz.	I 0,1n	II 0,3n	III 0,5n	
Wachstums-modus	Küvette		Tropfen	

Die in vier Teile geteilte Charge wird typisiert, indem aus einem Drittel drei Proben zu je 1 g in drei Wägegläschen zur Trockengewichtsbestimmung gegeben werden. Aus dem Rest dieses Drittels kann bei zu geringer Solkonzentration ein Teil durch Wasserentzug im Vakuumexsikkator konzentriert werden. Der verbleibende Rest wird kühl gelagert. Die beiden anderen Drittel werden zur H-Ionotropie verwandt.

Abb. 20, Seite 54, zeigt eine Versuchsreihe, wie in der Anordnung zu Versuch 27 im Schema dargestellt ist. Die Gele wurden nach der Untersuchung in Reagenzgläsern unter Glycerin : Wasser 1 : 1 aufbewahrt. Am unteren Rand des Ständers befestigte Plaketten mit den Nummern 1, 6 und 11 zeigen fehlende Versuchsnummern an, die aus der Reihe fortgelassen wurden, da diese Gele nicht haltbar waren. Weiterhin sieht man aus der Reihe, daß die Lichtdurchlässigkeit der Gele abnimmt, während ihr Zusammenhalt stärker wird. Die auf Abb. 6, Seite 11, ungefähr zweifach vergrößerten Abbildungen zeigen das Aussehen der Gele.

Aus den zur H-Ionotropie zu verwendenden Dritteln der Charge werden zusammen fünf Teile zu je 1,5x3x2 = 9 Gramm in Zentrifugengläser zu einer vorher genau abgewogenen Menge CHS gegeben:

1 = 0,000 g CHS 2 = 0,018 g CHS
3 = 0,036 g CHS 4 = 0,054 g CHS
5 = 0,072 g CHS.

Jede Konzentrationsstufe wird 10 Min. zentrifugiert, stark durchgerührt und nochmals 15 Min. zentrifugiert. Sodann werden die Proben aus jedem Zentrifugenglas in je 6 Küvetten gegeben. Die Reste bleiben für die Tropfversuche. Je eine Küvette der gleichen CHS-Konz. wird nun in je eine Petrischale der dreifach abgestuften Elektrolytkonzentration von I = 0, In; II = 0,3n; III = 0,5n von Milch- bzw. Citronensäure gesetzt, nachdem ein mit dem entsprechenden Elektrolyt angefeuchtetes Grobfilter vorsichtig so auf die Oberfläche der mit Sol plan gefüllten Küvette gelegt wurde, daß keine Luftblasen darunter verbleiben. Die Küvette wird nach Einbringen in den Elektrolyt von diesem bedeckt, die Filterscheibe wird dann abgehoben.

Zur Veranschaulichung der Anordnung der Versuchsreihe gibt die folgende Tabelle das Ordnungsschema wieder, zu dem schon Abb. 20 auf Seite 54 beschrieben wurde.

Ordnungsschema zu Versuch 27

Konzentration → CHS

Säure

	1	2	3	4	5
I	1	2	3	4	5
II	6	7	8	9	10
III	11	12	13	14	15

Diese Anordnung wird für jede Charge viermal aufgestellt; für Milchsäure als Tropf- und Küvettenversuch und für Citronensäure als Tropf- und Küvettenversuch.

Der Tropfversuch wird so durchgeführt, daß in je 30 Gläschen, von denen je 5 die gleiche Konzentration der gleichen Säure enthalten, einige Tropfen Sol einer CHS-Konzentrationsstufe eingetropft werden, so daß die 5 CHS-Konz.-Stufen in zwei verschiedenen Säuren unter drei verschiedenen Normalitäten vorliegen. Die Eigenschaften der Gelsphärite werden mit denen der Flächengele verglichen.

Nach Abschluß der Strukturierung des Sols zum kapillären Gel werden Küvetten und Tropfen dem Elektrolyt entnommen und unter dem Mikroskop nach Anfertigen von Schnitten, auf Kapillardurchmesser, Anzahl pro 1 mm^2 Makro- oder Mikrokapillarität sowie Kapillarhäufigkeit, Gelkonsistenz, -opazität und -kapillarität in makroskopischem Befund untersucht, s. Tab. zu Versuch 27, Teil 3, unten. Hernach werden die Proben in die entsprechende 1n Säure gegeben, wenn Sekundärschrumpfung induziert werden soll.

Tabelle zu Versuch 27

Teil 3 = Ionotrope Eigenschaften

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse mit den Optima von Flächengelen und Sphäriten. aus Küvette (Küv.) und Tropfversuch (Tr.).

Charge	Säure	Gel-form	Säure-konz.	CHS-konz.	Kapill.-durchm.	Kapill.-zahl/mm^2	Kapill.-larit.
I	Milchsäure	Küv.	0,1n	0,8s%	55 µ	1/mm^2	singul.
		Tr.	0,3n	0,8s%	65 µ	3/mm^2	plurär
	Citronensre.	Küv.	0,1n	0,8s%	(20 µ)	4/mm^2	plurär
		Tr.	0,3n	0,8s%	(900 µ)	4/mm^2	plurär
II	Milchsäure	Küv.	0,3n	0,6s%	1000 µ	1/mm^2	singul.
		Tr.	0,3n	0,6s%	110 µ	1/mm^2	singul.
	Citronensre.	Küv.	0,5n	0,8s%	310 µ	1/mm^2	singul.
		Tr.	0,5n	0,6s%	220 µ	4/mm^2	plurär
III	Milchsäure	Küv.	0,5n	0,8s%	150 µ	8/mm^2	dichtk.
		Tr.	0,5n	0,8s%	65 µ	10/mm^2	dichtk.
	Citronensre.	Küv.	0,3n	0,6s%	150 µ	6/mm^2	polyk.
		Tr.	0,3n	0,6s%	100 µ	5/mm^2	plurär
IV	Milchsäure	Küv.	0,5n	0,8s%	220 µ	2/mm^2	singul.
		Tr.	0,5n	0,6s%	110 µ	2/mm^2	singul.
	Citronensre.	Küv.	0,3n	0,8s%	275 µ	1/mm^2	singul.
		Tr.	0,5n	0,4s%	200 µ	3/mm^2	plurär

0 = ohe Kapillaren; 1-2 = singulärkap. (einzelne K.); 3-5 = plurärkapill. (mehrere K.); 6-7 = polykapillär (viele K.); 8 = dichtkapillär. - Kapillarzahl in 1 mm^2 -.

Die Optima sind aus möglichst kleinem Kapillardurchmesser und möglichst großer Zahl geschätzt. Unterstrichen ist das jeweilige Optimum einer Charge.

Das Optimum an Säure- und CHS-Konzentration wird ermittelt. Diese Optimalbedingungen werden dann aus dem Rest-Drittel des Sols der Charge nochmals hergestellt. Es folgt wiederum ein Versuch in der Küvette, ein Tropfversuch und ein Formversuch. Die Form, Hohlform einer Zahnhälfte, kann aus Filtermaterial oder aus einer gewachsenen Gelmembran hergestellt sein. In die Formen wird das Sol gefüllt und von unten mit Elektrolyt benetzt. Das resultierende, zahnförmige, kapilläre Strukturgel ist Endprodukt der Versuchsreihe. Die vier Abbildungen 23, nächste Seite, zeigen Schnitte von solchen Formgelen.

Nachdem die Resultate von allen vier Chargen vorlagen, Tabelle zu Versuch 27, Teil 4, wurden Formgele hergestellt, Abb. 22, unten.

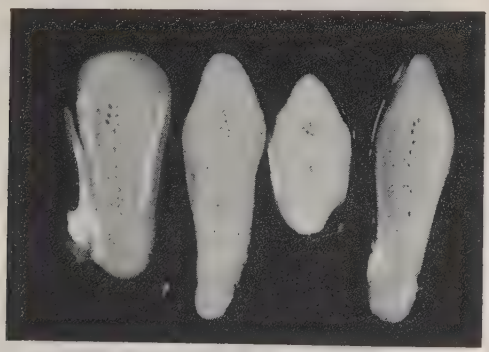


Abb. 22: Zahnförmige, kapilläre Strukturgele aus Kollagen-CHS-Symplex. Optimalbedingungen aus Versuch 27.
Die vier Quellungsstadien von rechts nach links 1 - 4.
2fach.

Man erkennt die verschiedene Dichte der Gele. Die verschiedenen Kapillardurchmesser sind auf verschiedene Quellungsstadien zurückzuführen und später auf verschiedene Wachstumsgeschwindigkeiten.

a

b

c

Abb. 23 a, b, c: Zahnförmige, kapilläre Gele aus Kollagen-CHS-Symplexen. Verschiedene Kapillarität und Dichte. 2fach.

Tabelle zu Versuch 27

Teil 4 = Versuchsergebnisse mit den aus Tab. 3 ermittelten Optima.

Charge	Säure	Gel-form	Säure-Konz.	CHS-Konz.	Kapillaren-durchm.	Kapillaren-zahl
I	Milchsäure	Küvette Tropfen	0,3n	0,8s%	55 µ 100 µ	12/mm^2 5/mm^2
II	"	Küvette Tropfen	Mittelwert 0,4n	0,6s%	100 µ 200 µ	30/mm^2 7/mm^2
III	"	Küvette Tropfen	0,5n	0,8s%	150 µ 200 µ	6/mm^2 8/mm^2
IV	"	Küvette Tropfen	0,5n	0,6s%	550 µ 220 µ	2/mm^2 2/mm^2

Diese Tabelle vermittelt das Endergebnis des Versuchs und somit des praktischen Teils der Arbeit.

Die Kurve der Wachstumsgeschwindigkeiten, Abb. 24, unten, zeigt den Einfluß der Quellzeit auf die Qualität eines Sols.

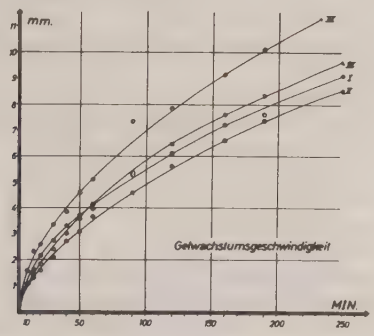


Abb. 24: Gelwachstumsgeschwindigkeit. Chargen I - IV aus Versuch 27. Symplexe nach ermittelten Optimalkonzentrationen unter 0,5n Milchsäure.

Kurve I zeigt erst einen starken Anstieg, der später abnimmt. Kurve II mit optimal gequollenem Sol hat den geringsten Anstieg, während III und IV jeweils steiler ansteigen. Daraus ist zu ersehen, daß ein optimal gequollenes Gel minimale Wachstumsgeschwindigkeit hat. So ist in der Wachstumsgeschwindigkeit der Gele zu den zwei Charakteristika eines Sols, Trockensubstanzgehalt und Quellzeit, eine neue Größe hinzugekommen. Diese Größen können sich nicht gegeneinander beliebig ändern, sie sind abhängige Veränderliche einer Funktion.

Die aus den Versuchen ermittelten Ergebnisse wurden zur Kontrolle im Versuch 27 reproduziert, wie folgende Tabelle veranschaulicht:

Tabelle zu Versuch 27

Teil 5 = Zusammenfassung der Teilergebnisse von den optimalen Versuchsergebnissen zur Erzielung eines optimalen kapillären Strukturgels.

Ausgangsstoffe:	Rinderzähne
Reinigen:	Mit rotierenden harten Bürsten mit Bimssteinpulver und Wasser.
Lagerung:	Bei + 7° C in Glycerin : Wasser = 1 : 1.
Aufbereitung:	Mechanische Zerkleinerung in 1 - 2 mm^3 Granula.
Demineralisation:	In 25 %iger H_3PO_2 auf dem Schwingtisch während 280^h unter öfterem Säurewechsel.
Wäsche:	In Aquadest bis zum pH 7 unter häufigem Wasserwechsel während 30^h. WÄGUNG.
Quellung:	Offen: In 4fachem Volumen 2n NaOH unter ständigem Rühren bei konst. + 15° C während 142^h. Geschlossen: (Im Dialyseschlauch) in 2n NaOH bei konst. + 15° C während 79^h. Gesamtquellzeit = 221^h. WÄGUNG.
Dialyse:	Im Dialyseschlauch im Schrägzylinder mit Aquadest unter häufigem Wechsel bei 15° C während 40^h. WÄGUNG, TROCKENSUBSTANZBESTIMMUNG.
Symplexbildung:	Nach Konzentrationsreihe mit Chondroitinsulfat-Optimum (0,6 s%).
Restrukturierung:	In Küvette (Ø = 12, H = 5 mm) nach Abdecken mit Filter in 0,4 n Milchsäure (siehe Teil 4, Seite 71).

	KALBSMOLAREN				Zeit
Demineralis.-Flüssigk.	H_3PO_2 25 %ig	Citronensre.	H_3PO_2 25 %ig	Citronensre.	14 Tage
Mechanische Vorbereitg.	granuliert		ganze Zähne		
	Quellung				
Kollagensol-Trockensubstanz			(0,66%); nach Trocknen 0,99 %		15 Stdn
	0,72 %				30 Stdn
				1,10 %	70 Stdn
		verworfen			80 Stdn
Viskosität	gut fließend +++	Nach Trocknen niederviskos	schwachviskos +	hochviskos	
	Symplexbildung (CHS)				
Umrechnung s% in % abs.	0,1s% = 13,89 %	-/-	0,1s% = 10,06 %	0,1s% = 9,09 %	
	Dialyse				48 Stdn
	Restrukturierung				
Optima von Kapillardurchmesser und Häufigkeit bei defin. s% CHS mit Elektrolytion	V_{37}:M-Sre. 0,4n 0,4s%/200 µ Ø plurärkapillär		V_{19}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,7-1,2s%/50 µ Ø gleichmäßig	V_{22}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,2s%/100-500 µ singulärkapillär	
	V_{37}:C-Sre. 0,4n 0,4s%/200 µ Ø sing.-plur.kap.	-/-	V_{20}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,1s%/Kap.Opt. unregelmäßig	V_{25}: "	
			V_{21}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,15-0,2s%/500 µ große Areale	V_{26}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,4s%/Optimum plurärkapillär	
			V_{24}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 (siehe V_{21}) polykapillär	V_{28}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,8s%/500 µ Ø polykapillär	
			V_{24}:$Cu(NO_3)_2$ pH5 0,2s%/500 µ Ø polykapillär	V_{30}:M-Sre. 0,1n 0,8s%/500 µ Ø polykapillär	
				V_{41}:C-Sre. 0,5n 0,5s%/200 µ Ø plur.-polykap.	

Vergleichende Zusammenfassung der Versuchsreihen aus dem Sol von Versuch 11

D. ERGEBNISSE

Ausgangspunkt der Untersuchungen war die Arbeit von THIELE, H. und Mitarbeitern, speziell die in der Literaturübersicht unter den Nummern 129 und folg. aufgeführten. Hiernach ist es möglich, ein Alginat mit Metallionen, speziell mit zweiwertigen, so zu einem Gel zu restrukturieren, daß sich eine Textur bildet, die an die Dentinmatrix erinnert.

Weiterhin ist es gelungen, Rinderhaut so zu behandeln, daß ein Sol aus Hautkollagen resultiert, welches ähnlich dem oben erwähnten Alginat reagiert. In den Versuchen der vorliegenden Arbeit wurde das Sol aus Zähnen von Rind und Schwein gewonnen. Demineralisation mit 25 %iger H_3PO_2 lieferte gute Ergebnisse. Nach Waschen mit Aquadest wurde die Matrix dann zum Sol gequollen. 2n NaOH erwies sich als optimal bei etwa + 15° C und 220 Stunden. Aus dem entstandenen Sol wurde die Lauge durch Dialyse bei + 15° C entfernt. Das Sol wurde durch Ionendiffusion zu einem Gel geordnet.

Brauchbare Ergebnisse wurden erzielt durch Restrukturierung von Symplexen aus Dentinkollagen mit Mucopolysacchariden wie Chondroitinschwefelsäure und Hyaluronsäure. Letztere ergab mehr faserige Strukturen, während die Chondroitinschwefelsäure mehr an der Kapillarisierung beteiligt war. Weiterhin steigerte sich die Haltbarkeit des Strukturgels wesentlich.

Weitere Verbesserungen im Versuchsablauf ergaben sich bei Anwendung organischer Säuren unter physiologischen Bedingungen als H^+-Ionendonator wie Milch- und Citronensäure.

Die drei Komponenten Kollagen, Mucopolysaccharid und Elektrolyt müssen zur Bildung eines ionotropen Gels aufeinander abgestimmt sein.

Es ist möglich, dem Gel während seines Wachstums jede Form, auch die eines Zahnes zu geben.

Bei Verwendung von porösen Formkörpern zur Gelbildung bestimmt die Durchlässigkeit des Materials die Eigenschaft des resultierenden Gels mit.

Somit hängt die Beschaffenheit des kapillären Strukturgels hauptsächlich ab:

1. von der Art des Kollagensols,
2. von Art und Konzentration des Symplexpartners,
3. von Art und Konzentration des Elektrolyten,
4. von der Andiffusionsgeschwindigkeit desselben.

E. DISKUSSION

Die Literaturstudien lieferten, wie in Kapitel B, III erwähnt, stichhaltige Gründe für den angestrebten Vergleich der Textur in vivo mit der aus dem Versuch gewonnenen. Die folgende Diskussion soll ergeben, welche Schlüsse man aus den zitierten Beobachtungen bei Betrachtung von kolloidchemischer Warte aus ziehen kann und ob Rückschlüsse aus dem Versuchsablauf zur ionotropen Restrukturierung der Textur auf das Geschehen während der Genese möglich sind. Weiterhin werden vergleichende Betrachtungen über die Art und den Bau der Texturen angestellt.

Die in Kapitel B, II, a 1 zitierten Schilderungen der Dentinogenese lassen folgende Betrachtungen zu:

Vom frühesten Bildungsstadium an laufen kolloidchemische Reaktionen mit. Die am endoplasmatischen Retikulum von NOBLE[68] beobachteten Vesikeln weisen auf die Bildung eines organischen Zellsekrets hin, bei dem es sich wohl um ein viskoses Sol von Kollagenfadenmolekülen handelt. Dieses geht nach FLEISCH[36], KRANE und GLIMCHER[37b], FITTON JACKSON[47], YOUNG und GREULICH[74] in ein homogenes Produkt über und fließt nach Verlassen der Mutterzelle mit dem Sekret der Nachbarzellen zu einer blassen, zellosen, dünnen Schicht zusammen, V. EBNER[7], die später etwas dicker und stärker lichtbrechend wird. Diese Bildungszone wird teilweise schon als Praedentin bezeichnet.

Der geschilderte Ablauf ist der Werdegang eines Kollagensols. Zellorganellen bilden Granula eines hochviskosen, wasserarmen Sols, welches noch in der Zelle zu quellen beginnt und sich herausdrängt. Durch diese Wasseraufnahme ist im Sol eine Fließfähigkeit aufgetreten, die es ihm ermöglicht, mit dem Sekret der Nachbarzellen zusammenzufließen. Dieser erste Vorgang bei der Genese ist also durchaus als kolloidchemische Reaktion zu rekonstruieren.

Über die chemische Zusammensetzung sind durch vorhandene Untersuchungen genauere Angaben möglich:

Das Sekret stellt hauptsächlich einen Symplex aus Dentinkollagen mit Polysacchariden

dar. Beide Komponenten wurden von QUINTARELLI[95], LISANTI[96] und anderen radiographisch und farbreaktiv nachgewiesen. HODGE[111] hält sogar bestimmte Glycoproteide als Beimengungen zum Tropokollagen für dessen Anordnung für ursächlich. Kolloidchemische Versuche beweisen, daß Eiweiß, wie Kollagen, mit Mucopolysacchariden, wie Chondroitinsulfat oder Hyaluronsäure, Symplexe bildet, welche dadurch erst die Fähigkeit erhalten, Strukturen aufzubauen.

Die Bildung dieser Struktur in vivo wird in der Literatur folgendermaßen beschrieben:

Die von RASCHKOW erwähnte dünne Schicht der membrana praeformativa geht in die unverkalkte, strukturierte Substanz über, was auch als Umformung bezeichnet wird, MEYER[1], V. EBNER[7], GRÄFF und VOSTEEN[26], KRANE und GLIMCHER[37b], FITTON JACKSON[47] und LITTLE[116], Kollagenfäserchen treten sofort senkrecht zu den Odontoblasten auf, V. EBNER[7]. Ein Längsschnitt von erstgebildetem Dentin zeigt nach FASSKE[104] eine fibrillär gebaute Basalmembran, die von vielen Autoren beobachtet wurde und auch membrana limitans oder Doppelmembran genannt wird, wie von QUIGLEY[45].

Kolloidchemisch ausgedrückt bedeuten diese Beobachtungen, daß der in den Blasten entstandene und auf diesen zu einer Schicht zusammengeflossene Symplex hier mit einer vom Organismus sehr genau eingestellten Elektrolytlösung, der Gewebsflüssigkeit, zusammengetroffen ist. Es hat sich sofort eine Phasengrenze gebildet, die sich aus dem Sol durch das auftretende Membranpotential zu einer Kollagenmembran zusammenlagerte, welche darauf durch Ionendiffusion aus der Elektrolytlösung verfestigt wurde. Zwangsläufig ergibt sich aus diesem Ablauf ein tangentialer Faserverlauf in der entstehenden Membran. Dieser Ablauf stellt die erste Phase der Ionotropie dar.

In der Literatur wurde das Zustandekommen dieser und der folgenden Strukturart oft einer Zellaktivität oder, wie bei V. EBNER, einer physiologischen Kraft zugeschrieben. Die kolloidchemische Betrachtungsweise zwingt, diese Kraft zu konkretisieren.

Es findet eine Diffusion von Ionen aus der Gewebsflüssigkeit in das sezernierte Sol statt, welche die Orientierung der Fadenmoleküle und ihrer Aggregationen und deren

Verfestigung zur Matrix bewirkt. Diese Ordnung von Fadenmolekülen ist ein Hauptkriterium für Gewebe im Organismus.

Die folgende Anordnung der Kollagenfadenmoleküle ist die zweite Phase des Bauprinzips; sie findet nach dem gleichen Grundprinzip statt, führt jedoch zu einer anderen Textur, wie auch FASSKE[104] am Dentin feststellte: Hiernach beruht das Dickenwachstum des Dentins auf einem anderen Prozeß als bei der ersten Anlagerung. Die Art dieses Prozesses beruht nach FASSKE auf einer Abscheidung oder Ausflockung. WOHLBACH und HOWE, 1926, und DALLENDORF, 1938, sprechen von der Gelation einer kolloiden Flüssigkeit.

Diese beiden Angaben treffen tatsächlich auf die Vorgänge bei der Ionotropie zu. Die erwähnte Ausflockung eines Kolloids beruht auf seiner Entladung und Dehydratation; während der ionotropen Strukturbildung werden die Kollagenfadenmoleküle partiell entladen, ausgerichtet und vernetzt.

Der von FASSKE beschriebene Prozeß des Dickenwachstums entspricht der zweiten und dritten Phase der Ionotropie. War die erste Phase die der Bildung einer Primärmembran, so wird folgend das bei der partiellen Dehydratation der Kollagenmoleküle freiwerdende Wasser in Wachstumsrichtung gepreßt. Es schiebt sich in Form kleiner Tröpfchen, die sich im Durchlaufen einer an die Primärmembran anschließenden dünnen Schicht gebildet haben, vor der Bildungsfront her und formt dabei die Kapillarschicht. Die an die Primärmembran anschließende dünne Zwischenschicht wird auch im Organismus durchlaufen. Hier bildet sich nach der Grenzmembran die dünne Schicht des Manteldentins.

Die in der Literatur und auch in der Diskussion häufig erwähnten Kollagenfibrillen sind in vitro bisher unvollkommen nachgewiesen worden. HÖHLING[110] beobachtete Fasern, deren Grundelemente er in einer Größenordnung vor einigen mu angibt. Er erkennt jedoch keine bevorzugte Ausrichtung, wenn er sagt, daß die Fibrillen "selbst keine einheitliche Richtung besitzen, sondern netzartig angeordnet sind. Daher müsse man in der Dentingrundsubstanz von einer ungerichteten Orientierung der Bauelemente sprechen." Wie schon beschrieben, sehen andere Autoren

jedoch im Längsschnitt eine Orientierung senkrecht zu den Kapillaren. Betrachtet man den Längsschnitt der Dentinmatrix, so stellt man ein lockeres Raumnetz von Fibrillen fest, die vorzugsweise planparallel zur Wachstumsebene geordnet sind, während im Querschnitt ein Blick auf die Netzmaschen keine Ordnung zeigen kann, was sich sehr einfach aus dem Prinzip der Ionotropie erklärt.

Es wäre ferner unrichtig, zu beschreiben, daß diese Fasern in einer amorphen Grundsubstanz liegen. Diese Substanz, das aus Kollagenmolekülen gebildete Gel, kann nicht amorph sein, da schon ein einzelnes Fadenmolekül eine definite Gestalt besitzt, also nicht "amorphos", ohne Gestalt ist, wie auch THIELE, H.[130] andeutet. Diese niederen Aggregationen von Molekülfäden richten sich ebenso aus, wie ihre Vereinigung zu Helices. Aus kolloidchemischer Sicht gehorchen Fadenmoleküle wie deren Aggregation zu Fibrillen den gleichen Gesetzen der Ionotropie. Im Dentin sind diese Bausteine orientiert.

Im genetischen Ablauf bilden sich primär zwei Zonen, Grenzmembran und Manteldentin, worauf die Ausbildung der Kapillaren einsetzt, die MEYER (1951) für einfache Aussparungen in der Grundsubstanz hält. Der weitaus größere Teil bisheriger Untersuchungen macht den Odontoblastenfortsatz für die Entstehung der Kapillaren verantwortlich. Es erhebt sich die Frage, ob am fixierten, gefärbten, eingebetteten Schnitt erkennbar ist, wie eine Kapillare entsteht, wie in diese der Odontoblastenfortsatz eintritt, oder ob sich die Kapillare auf andere Weise gebildet hat, wie in vitro, bei der Ionotropie, durch das abgedrängte Hydratationswasser des Sols. Man kann viele Argumente gegen die Bedeutung des Fortsatzes anführen, diese sind jedoch gegen die Vielzahl histologischer Untersuchungen über die im Organismus einmaligen Fähigkeiten des Zellfortsatzes nur aus Versuchen in vitro gewonnen oder aus theoretischen Vergleichen der postulierten Eigenschaften der Blastenzelle hervorgegangen. Auch im Zahnkeim muß das bei der Verfestigung des Sols zu einem Gel freiwerdende Wasser irgendwohin abfließen, wie es das im kolloidchemischen Versuch tut. In vitro bilden sich hierdurch Kapillaren.

Aus der bisherigen Diskussion zeigt sich, daß die von THIELE, H.[134] festgestellte Gesetzmäßigkeit bei der Bildung ionotroper Gele aus Fadenmolekülen mit den hierbei

auftretenden Phasen weitreichende Beziehungen zur Genese der Dentinmatrix aufweist. Diese in der vorliegenden Arbeit festgestellten Beziehungen wurden zum Anlaß genommen, ein der Dentinmatrix ähnliches Gewebe in vitro aus gelöster Zahnmatrix durch Ionotropie zu restrukturieren. Der folgende Teil der Diskussion befaßt sich mit dem Vergleich der Zahnleitstruktur mit der eines aus den Versuchen hervorgegangenen kapillären Strukturgels.

Das Sol zur Restrukturierung wurde auf möglichst schonende Weise aus Zahnbein gewonnen, indem die demineralisierte Matrix zu einem hochviskosen Sol gequollen wurde, das sich, klar, schwach lichtbrechend und mit einer sehr geringen Fließfähigkeit und hohen Viskosität mit den Granula im Odontoblastensekret vergleichen läßt. Bei weiterem Quellen geht dieser Zwischenzustand durch Lösen in eine homogene, hochviskose, klare, lichtbrechende Flüssigkeit, das Sol, über. Dieser Zustand läßt sich mit dem des Blastensekrets in der RASCHKOWschen membrana praeformativa vergleichen. Allerdings fehlt im in vitro gewonnenen Sol eine chemische Komponente, der Partner des Kollagen zum Symplex, den schon HODGE[111] bedeutend für das Zustandekommen von Strukturen hält, das Mucopolysaccharid. Die Richtigkeit dieser Feststellung von HODGE zeigte sich im Versuch, da eine Kollagenstrukturierung ohne Mucopolysaccharid als Symplexpartner nicht möglich war. Wahrscheinlich werden die im Dentin vorhandenen Mucopolysaccharide bei Demineralisation und Quellung der Dentinmatrix abgebaut und herausgelöst und müssen daher im weiteren Versuch wieder zugesetzt werden. Nach Hinzufügen von Chondroitinsulfat trat Ionotropie ein.

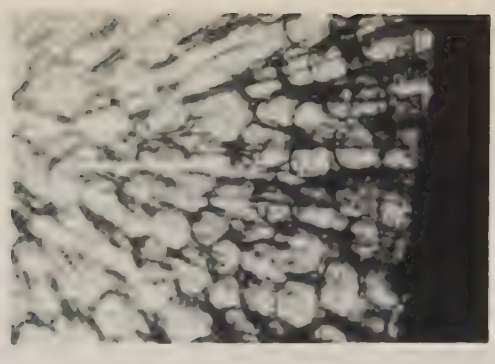
Den Gehalt eines verwendeten Sols an fibrillären Bestandteilen gibt die elektronenoptische Aufnahme von Hl. MAHL auf Seite 46 wieder. So kann also beim Vergleich der Strukturen davon ausgegangen werden, daß mindestens Fadenmolekülaggregationen von der von HÖHLING als Grundelemente angegebenen Größenordnung im Sol sowohl im Organismus als auch in vitro vorliegen. Wie betont, sind bei Hyaluronsäurezusatz in vitro faserähnliche Bildungen beobachtet worden. Weitere Untersuchungen und vor allem elektronenoptische Kontrollen sind hier erforderlich.

Bringt man nun in vitro das Sol mit einer Elektrolytlösung ähnlich der Gewebsflüssigkeit im Zahn zusammen, so bildet sich eine Phasengrenze aus. Es entsteht ein Membranpotential, die Solfasern ordnen sich parallel zur Wachstumsebene und die eindiffundierenden Elektrolytionen festigen sie zu einer Primärmembran. Nach dieser ersten Bildungsphase folgt als Übergang die Zone tropfiger Entmischung, in der sich das lockere Fasernetzwerk und in ihm die Kapillaren zu gestalten beginnen. Das Wachstum des Strukturgels, dessen Geschwindigkeit von der Konzentration der Reaktionspartner abhängt, tritt in die dritte Bildungsphase - die Kapillarzone - ein. Zu Beginn dieser Phase zeigen die Kapillaren die Tendenz, aufzuzweigen. Im weiteren Wachstum bilden sich die Kanälchen mit einem schwachen Anstieg in einem Raumnetz aus Kollagenfasern aus.

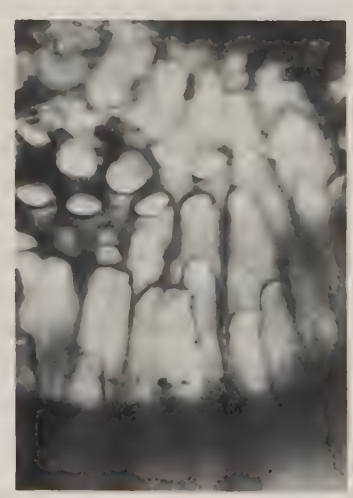
Soweit folgt ein Symplex aus Dentinkollagen mit Mucopolysacchariden dem im ersten Teil der Diskussion ausgearbeiteten Schema. Somit ist der Nachweis erbracht, daß prinzipiell ein so entstandenes kapilläres Strukturgel zumindest als Modell für die organische Matrix des Dentins seine Geltung hat. Die Abb. 25 a - d auf der nächsten Seite zeigen mikroskopische Aufnahmen der Strukturgele aus solchen Symplexen. Es war jedoch mit Zahnkollagen-Chondroitinsulfat-Symplexen nicht möglich, Größen wie die Verteilung der Kapillaren oder deren Durchmesser dem Dentin gleich zu gestalten. Dies ergab sich nur mit Solen von Alginat, Eieralbumin oder Serumalbumin, die den Ausgangspunkt der Versuche bildeten. Die Abbildungen 7, Seite 13, und 26, Seite 83, zeigen eine Gegenüberstellung von einem solchen Strukturgel gegen Dentinmatrix.

Eine solche vergleichende Gegenüberstellung ist kolloidchemisch durchaus möglich, denn das als Beispiel angeführte Alginat und Albumin enthält Fadenmoleküle, die sich in ihren kolloiden Eigenschaften unwesentlich von denen des Zahnkollagens unterscheiden, wie auch im Kapitel B, I, b beschrieben. Sie bilden sehr ähnliche Strukturen aus.

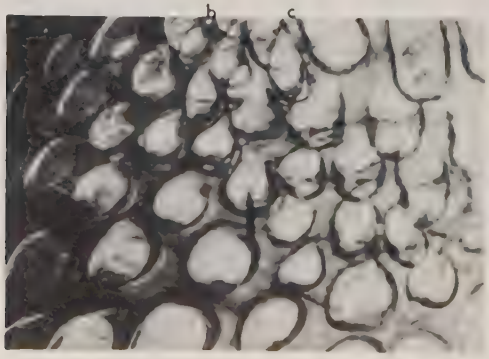
Bei den Dentinkanälchen schwanken Durchmesser, Anstieg und Häufigkeit innerhalb der Säugetierreihe in gewissen Grenzen. Nimmt man einen Durchmesser von ansteigend 1 : 4 an und eine Verteilung von einigen 10 000 pro mm^2, so stimmen diese



a



b c



d

Abb. 25 a - d: Mikroskopische Aufnahmen von kapillären, ionotropen Flächengelen. Schnitte. 1400 : 1.

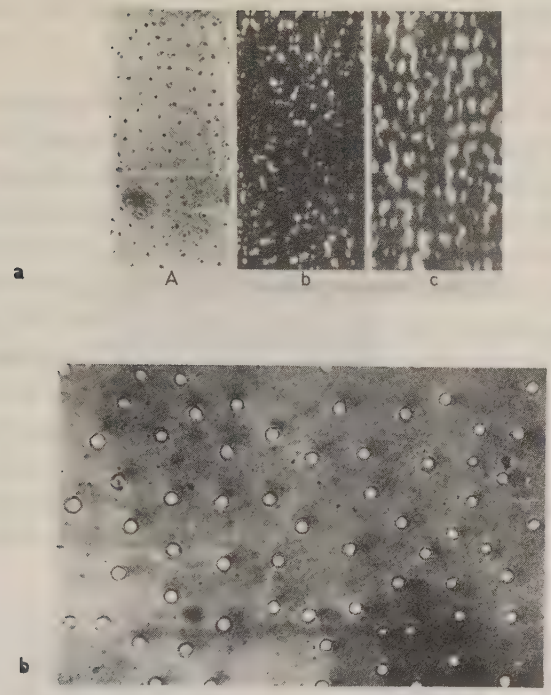


Abb. 26: Gegenüberstellung eines Strukturgels und eines Dentinschliffes.

a: Cebus, Backenzahn, Tangentialschliff, Dentin,
a) gewöhnliches Licht, b) Pol.+, c) Pol.x, 490 : 1 (negative Polarisationskreuze um die Zahnbeinkanälchen nach SCHMIDT, W.J. (1940 - 41)

b: Alginat mit Kapillaren aus 1 %igem Sol. Partieller Kettenabbruch nach 10 Std bei 100° C. Rutheniumrot, 100 : 1, nach THIELE, H.

Werte exakt mit denen überein, die man in einem Strukturgel aus Alginat oder Albuminat erzielen kann. Hier soll daran erinnert werden, daß es möglich ist, die angegebenen Größen in vitro durch Versuchsbedingungen zu verändern und einzustellen.

Die Tatsache, daß die Wand der Dentinkanälchen keine Struktur eigener Art ist, verträgt sich gut mit dem Aufbau eines kapillären Strukturgels. Die Eigenarten der Kanalwand sind, wie aus Ergebnissen in der Literatur hervorgeht, Folge der Mineralabscheidung an der Wand zum Lumen hin.

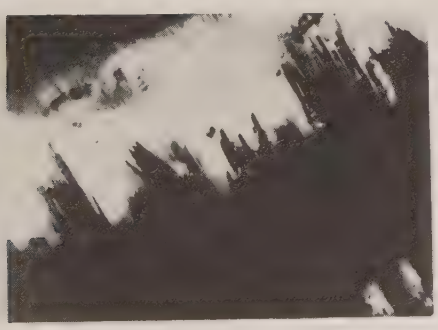
Bei den Versuchen, die Kapillarität der Strukturgele aus Dentinkollagen-Chondroitinsulfat-Symplexen der des Dentins anzugleichen, ergaben sich Bedingungen, die sich mit Untersuchungen am lebenden Gewebe decken. Es wurde nicht nur festsgestellt, daß Mucoplysaccharide für die Bildung von Strukturen essentiell sind, sondern auch, daß Schwankungen in der Konzentration - pH-Änderungen - in der Elektrolytlösung in der sich bildenden Struktur Schwankungen ergeben, wie das beim Tag-Nacht-Rhythmus im Zahn beobachtet wird, oder daß gar Strukturstörungen auftreten. Die Wachstumsgeschwindigkeit wie auch die Kapillarweite sind pH-abhängig. Nach bisherigen Feststellungen dürfte es jedoch möglich sein, durch Änderungen im Versuch, wie im Symplex oder in der Elektrolytlösung, ein kapilläres Strukturgel aus Dentinkollagen durch Ionotropie zu erzielen, das mikroskopisch und makroskopisch dem Dentin gleicht. Als weitere Analogien zum Organismus ergeben sich in vitro zwei Gesichtspunkte: Fehlbildungen mit zwiebelschaliger Anordnung oder radiär verlaufenden Kapillaren treten auf. Die makroskopische Form wird durch die Umgebung geprägt.

Die in vitro gebildeten Strukturen lassen Rückschlüsse zu auf die Entstehung und Veränderung der organischen Substanz des Zahnbeins. So ist es möglich, in vitro festzustellen, welche Stoffe zur Bildung einer Textur notwendig sind, welchen speziellen Effekt sie auf die Strukturierung haben und in welchen Konzentrationen ihr Wirkungsoptimum liegt. Hier kommen nicht nur Stoffe in Betracht, welche die Matrix aufbauen, sondern auch jene, die bei der Mineralisation eine Rolle spielen, sei es fördernd oder hemmend, physiologisch oder pathologisch wie bei Zahngenese, -resorption und -zerfall. Weiterhin dürfte es möglich sein, den Zahnschmelz analog zu untersuchen.

Somit ergibt sich die Verwendbarkeit eines kapillären Strukturgels aus einem Dentinkollagen-Mucopolysaccharid-Symplex als Modell für die Untersuchung des Dentins und seiner Veränderungen.

In einer unveröffentlichten Arbeit von THIELE und AWAD wird die Möglichkeit einer Mineralisation am Knochenmodell untersucht. Die folgende Abbildung zeigt eine Gegenüberstellung einer solchen in vitro mineralisierten Matrix mit einem Dentinschliff.

a.



b.

Abb. 27 a: Phytosauride, Querschliff, doppelbrechende mineralische Einlagerungen in den Dentinkanälchen, nach SCHMIDT, W. J.

b: Ca-Phosphat interkapillär in ionotropem Gel aus Alginat. Nach THIELE, H. und KRÖNKE, H.

Analog wäre eine Mineralisation der in dieser Arbeit dargestellten Matrix möglich. Daraus ergäbe sich die Möglichkeit, Untersuchungen über Mineralisation, De- und Remineralisation in vitro anzustellen.

Ein weiterer Gesichtspunkt wäre sodann die Anwendung der mineralisierten Textur als physiologisches Material zum Ersatz von Zahndefekten.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Ionotrope Gele - das sind solche aus geordneten Fadenmolekülen - lassen sich mit der Dentinmatrix vergleichen. Beide zeigen ähnliche Eigenschaften und analoges Verhalten.

2. Die Dentinmatrix läßt sich durch Diffusion von Ionen in Polyelektrolyte wie Alginat im Modell nachbauen - mit allen Eigenschaften wie Quellbarkeit, Elastizität, Doppelbrechung, vielen feinen Kapillaren mit Verzweigung und anderen Einzelheiten.

3. Darüber hinaus wurde der gesunde Zahn zunächst entkalkt, dann die MPS herausgelöst und schließlich das Kollagen in kolloide Lösung gebracht, ohne es zu denaturieren.

4. Aus diesen kolloiden Lösungen - insbesondere aus dem Symplex von Kollagen und Chondroitinsulfat wird durch Eindiffundieren von H-Ionen, das ist eine einfache pH-Änderung, eine Modellmatrix mit Kapillaren in der äußeren Form eines Zahnes wiederaufgebaut.

5. Die Bedingungen werden im Experiment in vitro eingehender untersucht, die Technik der Auflösung und Restrukturierung beschrieben und die Ergebnisse mit bekannten Tatsachen der Literatur verglichen.

G. LITERATURÜBERSICHT

1. MEYER, W.: Normale Histologie und Entwicklungsgeschichte der Zähne des Menschen. 2. Auflage, München 1951

2. MEYER, W.: Die Zahn-, Mund- u. Kieferheilkunde. Ein Handbuch für die Zahnärztliche Praxis. HÄUPEL, K., MEYER, W., SCHUCHARDT, K.; Band I, München 1954

3. FISH, E. W.: The Circulation of Lymph in Dentin and Enamel. (J.Am.Dent.Ass. =) J.A.D.A. 14, 804. 1927

4. MUMMERY, J. H.: The Structure of Enamel and Dentin ..... J.A.D.A. 14, 205. 1927

5. BÖDECKER, C. F.: Das Vorkommen von Fett in den Zahngeweben ... VJSCHR.ZHK. 47, 208. 1931

6. EBACHER, O., WANNENMACHER, E.: Zur Frage von Stoffwechselvorgängen in den Zahnhartgeweben. DTSCH.ZMKHK. 8, 201. 1941

7. V. EBNER, V.: Scheffs Handb. d. Zahnheilkunde; Histologie der Zähne mit Einschluß der Histogenese. Band I, 325. 1922

8. FREUD, E.: Scheffs Handbuch der Zahnheilkunde; Chemie der Mundhöhle. Band I, 654. 1922

9. FLEISCHMANN, L.: Scheffs H.d.Z., Das irreguläre Dentin. Band I, 747. 1922

10. HANAZAWE, K.: Eine Studie über den genauen Bau des Dentins ... VJSCHR.ZHK. 289. 1923

11. SMREKER, E.: Über Fortsetzung von Dentinkanälchen in den Schmelz. VJSCHR.ZHK. 521. 1923

12. KRAUS, A.: Zur Frage der experim. De- u. Remineralis. ..... DTSCH.MSCHR.ZHK. 17, 833. 1931

13. CREMER, H.D.: Ernährung, Verdauung, Innere Sekretion. DTSCH.ZMKHK. 8, 393. 1941

14. siehe 12.

15. FORSHUFVUD, S.: Über Zahnschmelz, dessen Genese, Vitalität und Struktur. Göteborg 1941

16. SCHMITZ, E.: Über den Mineralstoffwechsel von Knochen und Zahn. DTSCH.ZÄ.WSCHR. 36, 273. 1933

17. MEYER, W.: Strittige Fragen in der Histologie des Zahnschmelzes. VJSCHR.ZHK. 41,305. 1925

18. KEIL, A.: Über den Feinbau des normalen und krankhaften Zahnbeins ....
DTSCH.ZMKHK. 6, 347. 1939

19. SPRETER VON KREUDENSTEIN, T.: Über das Verhalten der Doppelbrechungserscheinung bei der experimentellen Mineralisationsstörung im Dentin.
DTSCH.ZMKHK. 6, 445. 1939

20. WANNENMACHER, E.: Diffusionsvorgänge in der harten Zahnsubstanz ...
DTSCH.ZMKHK. 5, 47. 1938

21. HATTYASY, D.: Untersuchungen über die Entwicklung des Schmelzes.
DTSCH.ZMKHK. 5, 128. 1938

22. KLEMENT, R.: Neue Anschauung. über die anorganische Knochen- und Zahnsubstanz. DTSCH.ZMKHK. 5, 760. 1938

23. MEYER, W.: Mikrophotographien allerfeinster Strukturen des Schmelzes mit ultraviolettem Licht. DTSCH.ZMKHK. 2, 43. 1935

24. KEIL, A.: Über den Feinbau der harten Zahnsubstanz nach Untersuchungen im polarisierten Licht. DTSCH.ZMKHK. 2, 741. 1935

25. SCOTT, D.B., NYLEN, M.V.: The Recent Advances in Dental Caries Research. A Possible Key to the Mechanism of Caries.
INTERN.DENT.J. 12, 4, 417.

26. GRÄFF, S., VOSTEEN, K.H.: Pathologische Anatomie der Hals-, Nasen-, Ohren- und Zahnheilkunde. Band II, 1961

27. Verhandlungen der 6. Tagung der Europäischen Arbeitsgemeinschaft für Fluorforschung und Kariesprophylaxe. ORCA
NEWESELY, H.: Herstellung synthetischer Hydroxylapatitkristalle

28. s.o. EGGERSLURA, H.: Experimental Decalcification of Enamel by Biological Substances at Neutral pH.

29. FECHT, J.: Synthese und spezifische Oberflächen von Zahn- und Knochenapatit. Univ. Freiburg; Dissertation 1957

30. BUTCHER, E.O., SOGNNAES, R.F.: Fundamentals of Keratinisation.
WATSON, M.L.: Extrazellular Position of Enamel. Kapitel 10
Publ.No. 70, AAAS Washington DC. 1962

31. Buchtitel wie 30.
PIEZ, K.A.: Chemistry of the Protein Matrix of Enamel. Kapitel 11

32. SOGNNAES, R.F.: Calcification in Biological Systems.
AAAS Washington DC. 1960
FRANK, R.M., SOGNNAES, R.F., KERN, R.: Calcification of Dental Tissue with Spezial Reference to Enamel Ultrastructure.

33. Buchtitel wie 32.
SOLMS, C.C., IRVING, J.T., NEUMAN, W.F.: Calcification of the Dentin Matrix.

34. Buchtitel wie 32.
BURSTONE, M.S.: Hydrolytic Ensymes in Dentinogenesis and Osteogen.

35. RANDALL, J.T.: Nature and Structure of Collagen, London 1953
STACK, M.V.: Properties of Dentin Collagen.

36. FLEISCH, H.: Role of Nucleation and Inhibition in Calcification.
Clinical Orthopaedics 32, 170. 1964

37. Radioisotopes and Bone. A Symposium Organized by the Council for International Organizations of Medical Sciences. UNESCO & WHO. 1962
Studies of the Interreaction of Collagen and Phosphates.
a) GLIMCHER, KRANE, M.S.: The Nature of Inorganic Orthophosphate Binding.
b. KRANE, GLIMCHER: Nucleotidase Activity and Binding of Nucleotide Phosphorus.

38. LEICESTER, H.M.: Biochemistry of the Teeth.
St. Louis 1949

39. WACHTEL, L.W.: Nitrogen Content of Zones Distinguished by Reflected Light in Enamel Sections from Unerupted Third Molars.
(J.Dent.Res.) J.D.R. 38, 3. 1959

40. QUIGLEY, M.B.: Electron Microscopy of Developing Enamel Matrix in the Syrian Hamster. J.D.R. 38, 181. 1959

41. HUGHSTON, H.H., EARLE, L.S., BINKLEY, F.: Amino Acid Composition of Proteins of Human Dentin. J.D.R. 38, 323. 1959

42. BHUSSRY, B.R.: Chemical and Physical Studies of Enamel from Human Teeth. IV. Density and Nitrogen Content of Motteled Enamel.
J.D.R. 38, 369. 1959

43. FLEMING, H.S.: Parotin and Growth Centers of Femurs and Inciors in Mice.
J.D.R. 38, 374. 1959

44. SAVORY, A., BRUDEVOLD, F.: The Distribution of Nitrogen in Human Enamel.
J.D.R. 38, 436. 1959

45. QUIGLEY, M.B.: Electron Microscopy of the Amelodentinal Junction ....
J.D.R. 38, 558. 1959

46. ALLAN, J.H.: Investigation into the Mineralization Pattern of Human Dental Enamel. J.D.R. 38, 1096. 1959

47. BRACHET, J., MIRSKY, A.E.: The Cell; VI. Biochemistry, Physiology, Morphology. Acad. Press. N.Y.
FITTON JACKSON, S.: Connective Tissue Cells

48. MORSE, A., GREEP, R.O.: Histochemical Observations on the Ribunucleic Acid and Glycoprotein Content .....
(Arch. Oral. Biol.) A.O.B. 2, 38. 1960

49. REITH, E.J.: The Ultrastructure of Ameloblasts from the Growing End of Rat Incisors. A.O.B. 2, 253. 1960

50. BOYLE, P.E., KALNINS, V.: Enamel Formation in Ameloblastomas. A.O.B. 2, 285. 1960

51. LEACH, S.A.: Electrophoresis of Synthetic Hydroxyapatite. A.O.B. 3, 48. 1960 - 61

52. VAN HUYSEN, G.: The Microstructure of Young Dentine. A.O.B. 3, 157. 1960 - 61

53. FEARNHEAD, R.W.: Electron Microscopy of Forming Enamel. A.O.B. 4, 24. 1961

54. LENZ, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Mineralisation des Zahnschmelzes und der beginnenden Schmelzkaries. A.O.B. 4, 34. 1961

55. HEUSER, H.: Die Struktur des menschlichen Zahnschmelzes im oberflächen-histologischen Bild. (Replica-Technik). A.O.B. 4, 50. 1961

56. SCHMIDT, H.: Ein Beitrag zur Morphologie der Interglobularräume im verkalkten Dentin und ihr Nachweis nach der Entkalkung. A.O.B. 4, 63. 1961

57. PERDOK, W.G., GUSTAFSON, G.: X-Ray Diffraction Studies of the Insoluble Protein in Mature Human Enamel. A.O.B. 4, 70. 1961

58. KARPISHKA, I., LEBLOND, C.P., CARNEIRO, J.: Radioautographic Investigations of the Uptake of Labelled Methionines by the Dentine and Enamel Matr. of Growing Teeth. A.O.B. 1, 23. 1959

59. IRVING, J.T.: A Histological Staining Method for Sites of Calcification in Teeth and Bone. A.O.B. 1, 89. 1959

60. WEIDMANN, S.M.: Review of Modern Concepts on Calcification. A.O.B. 1, 259. 1959

61. HARTLES, R.L., LEAVER, A.G.: Citrate in Mineralized Tissue - I. Citrate in Human Dentine. A.O.B. 1, 297. 1959

62. POOLE, D. F. G., BROOKS, A.W.: The Arrangement of Crystallites in Enamel Prisms. A.O.B. 5, 15. 1961

63. HARTLES, R.L., LEAVER, A.G.: Citrate in Mineralized Tissue - III. The Effect of Purified Diets Low in Calcium and Vitamin D on the Citrate Content of the Rat Femur. A.O.B. 5, 38. 1961

64. SYMONS, N.B.B.: A Histochemical Study of the Intertubular Matrices in Normal Human Dentine. A.O.B. 5, 241. 1961

65. IRVING, J.T., WUTHIER, R.E.: Short Communication. Further Observations on the Sudan Black Stain for Calcification.
A.O.B. 5, 323. 1961

66. TEN CATE, A.R.: The Distribution of Glycogen in the Human Developing Tooth.
A.O.B. 7, 1. 1962

67. REITH, E.J.; COTTY, V.F.: Autoradiographic Studies on Calcification of Enamel. A.O.B. 7, 365. 1962

68. NOBLE, H. W., CARMICHAEL, A.F., RANKINE, D.M.: Electron Microscopy of Human Developing Dentine.
A.O.B. 7, 395. 1962

69. SYMONS, N.B.B.: A Histochemical Study of the Odontoblast Process.
A.O.B. 7, 455. 1962

70. EMERSON, W.H., FISCHER, E.E.: The Infrared Absorption Spectra of Carbonate in Calcified Tissues. A.O.B. 7, 671. 1962

71. Siehe 37.

72. HUNT, A.M., PAYNTER, K.J.: The Role of Cells of the Stratum Intermedium in the Development of the Guinea Pig Molar.
A Study of Cell Differentiation and Migration Using Tritiated Thymidine.
A.O.B. 8, 65. 1963

73. BERGMAN, G.: Microscopic Demonstration of Liquid Flow Through Human Dental Enamel. A.O.B. 8, 233. 1963

74. YOUNG, R.W., GREULICH, R.C.: Distinctive Autoradiographic Patterns of Glycine Incorporation in Rat Enamel and Dentine Matrices.
A.O.B. 8, 509. 1963

75. EASTOE, J.E.: The Amino Acid Composition of Proteins from the Oral Tissues - II. The Matrix Proteins in Dentine and Enamel from Developing Human Deciduous Teeth. A.O.B. 8, 633. 1963

76. POOLE, D.F.G., TAILBY, P.W., BERRY, D.C.: The Movement of Water and Other Molecules Through Human Enamel.
A.O.B. 8, 771. 1963

77. GREULICH, R.C.: Dental Organic Matrices Studied by High Resolution Microradiography. J.D.R. 37, 5. 1958

78. TAKUMA, S.: Peritubular Matrix in Dentine.
J.D.R. 37, 7. 1958

79. Marie USSING NYLEN, SCOTT, D.B.: Electron Microscopic Studies of the Early Stages of Amelogeneses. J.D.R. 37, 22. 1958

80. SCOTT, D.B.: El.-Microscopic Study of Anorg. Enamel.
J.D.R. 37, 23. 1958

81. KUMANMOTO, Y., LEBLOND, C.P.: Visualization of C^{14} in Tooth Matrix after Administration of Labelled Hexoses.
J.D.R. 37, 147. 1958

82. HALL, D.M.: Study of the Submicroscopic Structure of Human Dental Enamel by Electron Microscopy. J.D.R. 37, 243. 1958

83. GELLER, J.H.: Metabolic Significans of Collagen in Toothstructure.
J.D.R. 37, 276. 1958

84. KVAM, T.: The Teeth of Alligator Mississipiensis Daud. II. Developement of Dentin. J.D.R. 37, 532. 1958

85. s. 84; III. Developement of Enamel.
J.D.R. 37, 540. 1958

86. NALBANDIAN, J., GONZALES, F., SOGNNAES, R.F.: Sclerotic Age Changes in Root Dentin of Human Teeth Observed by Optical, Electron and X-Ray Microscopy. J.D.R. 39, 598. 1960

87. NYLEN, M.U., SCOTT, D.B.: Electron-Microscop Study of Terminal Barsystems in Amelobl. J.D.R. 39, 660. 1960

88. PIEZ, K.A.: The Nature of the Protein Matrix of Human Enamel.
J.D.R. 39, 712. 1960

89. AVERY, J.K., VISSER, R.L.: Studies of Formation and Mineralization of Enamel Matrix. J.D.R. 39, 712. 1960

90. TAKUMA, S.: Preliminary Report on the Mineralization of Human Dentin.
J.D.R. 39, 964. 1960

91. TAKUMA, S.: Electron Microscopy of the Structure Around Dentinal Tubule.
J.D.R. 37, 973. 1960

92. SASSO, W.S. (Wilson Da Silva Sasso), SANTOS, H.S.: Electron Microscopy of Enamel and Dentine of Teeth of the Odontaspis (Selachii).
J.D.R. 40, 49. 1961

93. HELMCKE, J.-G., SCHULZ, L., SCOTT, D.B.: Fine Structure of Cross-Striations of Human Enamel. J.D.R. 40, 668. 1961

94. RÖNNHOLM, E.: Ultra-Structure of Developing Human Enamel, Electron Microscopy of Human Amelogenesis.
J.D.R. 40, 668. 1961

95. QUINTARELLI, G.: Polysaccharid Histochemistry of the Tooth Germ.
J.D.R. 40, 681. 1961

96. LISANTI, V.F.: Histochemical Disclosure of Enzyme Activities on Undecalcified Tooth Sections. J.D.R. 40, 685. 1961

97. MARTIN, G.R., RIZZO, A.A., MERGENHAGEN, S.E., WRIGHT, D.N., SCOTT, D.B.: In Vivo Studies on the Role of the Organic Matrix in Calcification. J.D.R. 40, 703. 1961

98. STOWELL, E.C., TAYLOR, J.B., WAINWRIGHT, W.W.: Ion Penetration through Teeth as Influenced by an Electrostatic Field.
J.D.R. 40, 739. 1961

99. AVERY, J.K., VISSER, R.L., KNAPP, D.E.: The Pattern of the Mineralization of Enamel. J.D.R. 40, 1004. 1961

100. OCKERSE, T.: Tubular Enamel in some Sea Fish in South Africa.
J.D.R. 40, 1170 1961

101. HELMCKE, J.-G.: Grenzen der Licht- u. polarisationsmikroskopischen Methoden in der Erforschung des Zahnschmelzes.
Mikroskopie 13, 313. 1959

102. HELMCKE, J.-G.: Bau und Struktur der Zahnhartsubstanz.
DZZ 15, 155. 1960

103. HELMCKE, J.-G.: Tätigkeitsbericht der Max-Planck-Gesellschaft.
Nat.-Wiss. 51, 595. 1964

In dem Tätigkeitsbericht auch:
a. BRAUER, R. (auch DZZ 16, 1055 1961)
b. ERMIN, R., RAU, R.

104. FASSKE, MORGENROTH: Pathalogische Histologie der Mundhöhle.
Leipzig, 1964.

105. HÖHLING, H.J.: Beispiele zur Herstellung und Untersuchung von Ultradünnschnitten biologischer Hartsubstanzen.
Leitz-Mitteilungen II 6, 164. 1963

106. HAINES, D.J.: The Spread of Decay in Human Teeth.
New Scientist 20, 151. 1963

107. HAINES, D.J., BERRY, D.C., POOLE, D.F.G.: Behavior of Tooth Enamel under Load. J.D.R. 42, 885. 1963

108. EASTOE, J.E.: Recent Studies on the Organic Matrices of Bone and Teeth. Proceedings of the First European Bone and Tooth Symposium, Oxford, April 1963. Pergamon Press 269. 1964

109. KVAM, T.: The Phylogenetic Transition from Mesodermal to Ectodermal Enamel. Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Forhandlinger 26, 84. 1953

110. HÖHLING, H.J.: Untersuchungen elektronenmikroskopischer Schnittbilder am gesunden und kranken Dentin.
Zschr.Natfrschg. Teil b 15b, 753. 1960

111. HODGE, A.J.: Principles of Ordering in Fibrous Systems.
4. Internationaler Kongreß für Elektronenmikroskopie. Verhandlungen, Band II. Biologisch-medizinischer Teil. Bd. II, 119. 1960

112. PEASE, D.C.: The Basement Membrane: Substratum of Histological Order and Complexity. (Titel des Buches wie 111.) Bd. II, 139. 1960

113. KÜHN, K.: Diskussionsbemerkung zum Vortrag von HODGE, A.J. (111.)
(Titel des Buches wie 111.) Bd. II, 155. 1960

114. NEMETSCHEK, T.: Längsaufteilung kollagener Fibrillen in Elementarfibrillen.
(Titel des Buches wie 111.) Bd. II, 340. 1960

115. HODGE, A.J., SCHMITT, F.O.: End Chain and Side Chain Interactions in the Ordered Aggregation of Modified Collagen Macromolecules.
(Siehe 111.) Bd. II, 343. 1960

116. LITTLE, K.: Mechanism of Formation of Polymeric Compounds in Tissue.
(Siehe 111.) Bd. II, 347. 1960

117. SCOTT, D.B.: The Crystalline Component of Dental Enamel.
(Siehe 111.) Bd. II, 348. 1960

118. LENZ, H.: Die Bildung der organischen Matrix des Schmelzes.
(Siehe 111.) Bd. II, 351. 1960

119. FEARNHEAD, R.W.: Comparative Observations on the Ultra-Structure of the Inorganic and Organic Components of Dental Enamel.
(Siehe 111.) Bd. II, 353. 1960

120. MILLARD, A., PAUTARD, F.G.E.: Electron Microscope Observations on Apatite Crystallites in Human Dentine and Enamel.
(S. 111.) Bd. II, 357. 1960

121. EGGERS LURA, H.: Eine Untersuchung über die Beziehung des Speichelsialins zur Karies. DZZ 15, 963. 1960

122. KOHARI, S., BONA, K.: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen von Zahnschmelz und Dentin bei Individuen verschiedenen Alters.
DZZ 15, 1009. 1960

123. ARMSTRONG, W.D.: Chemistry of Carious Enamel and Dentin.
Conference on Phosphates and Dental Caries.
J.D.R. (Suppl.) 43, 1003. 1964

124. JOHANSEN, E.: Microstructure of Enamel and Dentin.
ibidem 1007. 1964

125. BERTZBACH, K.: Auszüge aus den in deutscher Sprache erscheinenden zahnärztlichen Zeitungen. Jan. bis Sept. 1959
DZZ 15, 1118. 1960

126. HÖHLING, H.J., ERWIG, Ruth: Licht und elektronenmikroskopische Untersuchungen am kompakten, nicht vorbehandelten Zahnschmelz.
ibidem 1193. 1960

127. BEVELANDER, G.: ORBAN's Oral Histology and Embryology, 5th Ed., Saint Louis IV. Dentin p. 107 1962

128. SCHMIDT, W.J., KEIL, A.: Die gesunden und die erkrankten Zahngewebe des Menschen und der Wirbeltiere im Polarisationsmikroskop, München 1958

129. THIELE, H., KRÖNKE, H.: Geordnete Kristallisation II.
Nat.wiss. 13, 374. 1957

130. THIELE, H.: Synthese mizellarer Strukturen und intermizellare Kristallisation. Urol. int. 7, 74. 1958

131. THIELE, H., KRÖNKE, H.: Geordnete intermizellare Kristallisation. Zschr. Natfrschg. 8/9, 498. 1959

132. THIELE, H., REESE, G.: Die Augenlinse als ionotropes Gel. Zschr. Natfrschg. 17, 470. 1962

133. THIELE, H., PLOHNKE, K., BRANDT, E., MOLL, G.: Ordnen von Polyelektrolyten durch Ionendiffusion Kolloidzschr. 182, 24. 1962

134. THIELE, H.: Ionotrope Gele - Modelle für das biologische Wachstum. Umschau 4, 117. 1963

135. LANGE, J., PLOHNKE, K.: Künstliche Ordnung von Makromolekülen und natürliche Texturen. Zeiss-Mittl. 2, 241. 1962

136. THIELE, H.: Kunststoffe, ein Überblick. Kiel 1961

137. THIELE, H., WOLLMER, A.: Zur Struktur der Augenlinse. Klin.Monatsblätter f. Augenhk. 146, 900. 1965

138. FIESER, L.F., FIESER, Marg.: Organische Chemie, Weinheim/Bergstr. 1965

139. BEYER, H.: Lehrbuch der organischen Chemie, Leipzig 1955

Diese Arbeit wurde unter der Leitung meines Klinikdirektors, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Harndt, mit Unterstützung des Leiters des Lehrfaches für Kolloidchemie, Herrn Prof. Dr. H. Thiele, Kiel, in der Zeit von Oktober 1963 bis Mai 1964 in Berlin und von Mai 1964 bis Oktober 1965 in Kiel angefertigt.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Harndt, sage ich für die Förderung und Unterstützung meiner Arbeit Dank; Herrn Prof. Dr. H. Thiele danke ich für die großzügige Unterstützung während der Ausführung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 18. Oktober 1937 wurde ich, Erhard Johann Friedrich Sigismund Thiele als zweiter Sohn des jetzigen Wissenschaftlichen Rates Prof. Dr. phil Heinrich Thiele und seiner Ehefrau Paula geb. Raschke in Nowawes geboren.

Die Volksschule besuchte ich bis Februar 1946 in Nowawes und nach der Umsiedlung weiter in Kiel. Nach der 6jährigen Volksschulzeit wurde ich auf die Kieler Gelehrtenschule umgeschult. Vor der Mittleren Reife verließ ich die Schule. Diese Prüfung holte ich als Fremdenreifeprüfung nach Besuch des Kieler Abendgymnasiums nach. Da zu der Zeit eine Aufnahme in die Lehre des Dentistenberufs nicht mehr möglich war, setzte ich meinen Lehrgang an der Abendschule fort, um mich auf die Reifeprüfung vorzubereiten. Während dieser Zeit war ich hauptsächlich bei der Deutschen Bundespost angestellt.

Nach meiner Reifeprüfung im Herbst 1958 wurde ich im Wintersemester 1958/1959 an der Freien Universität Berlin für das Fach Zahnmedizin immatrikuliert. Während meiner Studienzeit hatte ich für ein Jahr als Studentenvertreter das Amt eines Zulassungsreferenten und für eineinhalb Jahre das Amt eines Vorsitzenden des Fachverbandes Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde inne.

Im Mai 1961 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und im Mai 1964 die zahnärztliche Prüfung mit "gut". Hierauf erhielt ich am 15. Juni 1964 meine Bestallung als Zahnarzt.

BAMBERGER FOTODRUCK - Rudolf Rodenbusch